

Untersuchungen zur Sprayvakzination
gegen die atypische Geflügelpest
unter Verwendung der Stämme
Hitchner B₁ und LaSota

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Günter Schulze-Rehm
Tierarzt aus Berlin

Berlin 1973
Journal-Nr. 820



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Fachrichtung Geflügelkrankheiten
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Untersuchungen zur Sprayvakzination
gegen die atypische Geflügelpest unter Verwendung der
Stämme Hitchner B₁ und LaSota

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Günter Schulze-Rehm
Tierarzt aus Berlin

Berlin 1973

Journal - Nr. 820

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinär-
medizin der Freien Universität Berlin

Vorsitzender: Prof. Dr. H.G. Sinell
Referent: Prof. Dr. G. Monreal
Korreferent: Prof. Dr. E. Gerriets



Tag der Promotion: 11.7.1973

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite:</u>
1. Einleitung	1
2. Literatur	3
3. Material und Methoden	11
3.1. Tiermaterial und Tierhaltung	11
3.2. Impfstämme und Bestimmung des Virusgehaltes der Vakzinen	12
3.3. Vakzinationstechnik	13
3.4. Blutprobenentnahme	14
3.5. Hämagglutinationshemmungstest	15
3.6. Belastungsinfektion	16
4. Ergebnisse	17
4.1. Vorversuche zur Vakzinationstechnik	17
4.2. Immunantwort von SPF-Küken bei Sprayvakzination als Erstimpfung in verschiedenem Lebensalter	23
4.3. Immunitätsbildung durch Sprayvak- zination unter normalen Aufzucht- bedingungen	33
5. Besprechung der Ergebnisse	53
6. Zusammenfassung	61
7. Summary	61a
8. Literaturverzeichnis	62

1. EINLEITUNG

Die atypische Geflügelpest oder Newcastle Disease wurde erstmalig im Jahre 1926 von T.M. DOYLE als selbständige Krankheit beschrieben. Aus der gleichen Zeit stammen Berichte über das Auftreten der Krankheit im asiatischen Raum, hauptsächlich rund um den Indischen Ozean. (1)

Ungefähr um 1940 ist die Newcastle Disease nach Europa eingeschleppt worden und hat sich seit dieser Zeit über alle europäischen Länder ausgebreitet. Etwa zur gleichen Zeit wie in Europa trat die Krankheit in den USA auf und wurde 1944 als Newcastle Disease erkannt. (1)

In der Zeit nach dem 2. Weltkrieg, insbesondere während der letzten 10 Jahre, hat die Geflügelhaltung einen unerwartet raschen Aufschwung genommen, und wir stehen heute vor einer fast industriell betriebenen Intensivhaltung mit Ansammlung einer großen Anzahl von Tieren auf verhältnismäßig engem Raum.

Es ist klar, daß die heutige Massentierhaltung in der Geflügel-Intensivwirtschaft ohne eine wirksame Impfprophylaxe gegen die inzwischen stationär gewordene Newcastle Disease nicht auskommen kann. Besondere Bedeutung gewann die Frage einer wirksamen Immunisierung wieder im Jahre 1970, als ein neuer Seuchenzug durch Europa ging.

Auf der Suche nach einem optimalen Schutz der Geflügelbestände gegen die atypische Geflügelpest ist besonders in den Ballungsgebieten der Hühnerhaltung u.a. die Sprayvaccination angewendet worden (2).

In den vorliegenden Untersuchungen sollte geklärt werden, ob die Sprayvaccination zur Immunisierung von Hühnern

gegen die Newcastle Disease geeignet ist. Durch Immunitätskontrollen wurde die Wirkung des versprühten Impfvirus auf SPF-Küken verschiedenen Lebensalters und auf konventionelle HNL-Aufzuchtküken geprüft. Dabei wurden die Impfstämme LaSota und Hitchner B₁ miteinander verglichen.

2. LITERATUR

Zur Immunprophylaxe gegen die atypische Geflügelpest stehen in der Bundesrepublik z.Z. zwei Gruppen von Vakzinen zur Verfügung, und zwar Vakzinen, die inaktiviertes Virus enthalten sowie Lebendvakzinen, die auf der Basis lentogener NDV-Stämme entwickelt worden sind.

In dem Bemühen um eine möglichst optimale Immunisierung der Geflügelbestände jeden Lebensalters sind im Laufe der Zeit immer neue Impfprogramme und unterschiedliche Applikationsformen entwickelt worden.

Grundsätzlich ist es möglich, die Tiere parenteral, peroral oder auf dem Wege über den Respirationstrakt zu immunisieren, wobei peroral eine Infektion der respiratorischen Organe einschließen muß.

Über die Immunantwort des Huhnes auf die einzelnen Vakzinen und Applikationsformen sind bereits zahlreiche Untersuchungen angestellt worden. Zur Beurteilung der Immunantwort des Huhnes auf die Vakzination ist von ausschlaggebender Bedeutung, daß sowohl humorale als auch lokal wirksame Antikörper ausgebildet werden. BEARD und EASTERDAY (4) fordern, daß zur Beurteilung der Immunität nicht nur die Bestimmung der im Blut zirkulierenden Antikörper herangezogen werden sollte. Bei ihren immunologischen Untersuchungen über die Newcastle Disease stellten sie fest, daß selbst bei intravenöser Gabe von humoralen Antikörpern in Form von Hochimmunserum und bei daraus resultierenden hohen Titern, Küken gegen eine Infektion der Atemwege mit ND-Virus nicht geschützt waren, wenn sie mit diesem auf aerogenem Wege infiziert wurden. In einer anderen Untersuchung stellten sie fest (3), daß nach aerogener Immunisierung die Tiere sich als immun so-

wohl gegen eine aerogene als auch gegen intramuskuläre Infektion erwiesen. Das bedeutet, daß die Immunität, wenn sie unter Einbeziehung des respiratorischen Epithels erzeugt wird, sowohl durch lokal wirksame Antikörper als auch durch im Blut zirkulierende Antikörper wirksam ist.

Da der natürliche Infektionsweg der atypischen Geflügelpest überwiegend die aerogene Infektion ist (46), sind die lokal wirksamen Antikörper von großer Bedeutung für die Immunprophylaxe. Nach aerogener Vakzination oder Infektion fanden BEARD und EASTERDAY (5) bei histologischer Untersuchung der Trachealschleimhaut vom 10. Tage p.vacc. an mononucleäre Knötchen, von denen man annimmt, daß sie im Zusammenhang mit der Ausbildung der lokal wirksamen Antikörper stehen. Bei intramuskulärer Vakzination sind vergleichbare Veränderungen in der Trachealschleimhaut nicht gefunden worden (5,34). Diese Ergebnisse stehen z.T. im Widerspruch zu den Untersuchungen von KRAFT und Mitarb. (28), die auch bei intramuskulärer Vakzination die Ausbildung einer lokalen Immunität beobachten konnten.

Problematisch gestaltet sich bis heute die Immunprophylaxe bei Küken in den ersten Lebenstagen. Übereinstimmend wird in der Literatur über den störenden Einfluß der maternalen Antikörper auf die Immunitätsbildung nach Vakzination in den ersten Tagen berichtet (10,11,14,31,54,55). SUGIMURA und Mitarb. (47) berichteten über eine mangelhafte Ausbildung der humoralen Antikörper in den ersten Lebenstagen. Davon ausgenommen ist nur die aerogene Vakzination. Küken, die am 1. Lebenstag intranasal mit Stamm LaSota und mit dem Stamm F immunisiert wurden, wobei ebenfalls die respiratorische Schleimhaut als Infektionsort angesehen werden muß, zeigten gute Impfergebnisse. SCHNEIDER und BENGELS-

DORFF sehen einen nachteiligen Einfluß der maternalen Antikörper lediglich auf die intramuskuläre Impfung (44). Die perorale, intranasale oder conjunctivale Applikation des Impfstoffs führt nach ihren Untersuchungen zur Ausbildung einer belastbaren Immunität. In den Versuchen von MAREK und Mitarb. (35), die Küken mit hohem maternalen Antikörperspiegel auf aerogenem Wege immunisierten, erwiesen sich dagegen die maternalen Antikörper als störend für die Ausbildung einer Immunität.

Für den Erfolg einer Impfung ist von großer Bedeutung die Höhe der Impfdosis. Nach den Untersuchungen von MONREAL, KRAFT und BAUMER (38) ist die minimale Impfdosis abhängig vom Infektionsort. Bei oral-nasaler Infektion beträgt sie $2 \times 10^4 \text{EID}_{50}/\text{Tier}$ (37,38), bei Applikation in die Schnabelhöhle $2 \times 10^6 \text{EID}_{50}/\text{Tier}$ (38) und bei Injektion in den Kropf unter Umgehung der Schleimhäute des Nasenrachenraumes war selbst eine Dosis von $2 \times 10^6 \text{EID}_{50}/\text{Tier}$ nicht ausreichend (38).

Schon bei der in der Praxis viel angewendeten Trinkwasserimpfung ist der Infektionsort in Abhängigkeit vom Tränksystem recht unterschiedlich. Beim Eintauchen des Schnabels in Wassergefäße bzw. Rinnentränken gelangt Impfvirus durch die Nasenöffnungen auch auf das respiratorische Epithel. Beim Trinken aus Nippeln wird entweder nur das Epithel des Verdauungstraktes oder auch die Schleimhaut der Schnabelhöhle und des Rachenraumes infiziert (38).

WINTERFIELD (54) ermittelte in seinen Untersuchungen als minimale Impfdosis $2,3 \times 10^5 \text{EID}_{50}/\text{Tier}$. Dieser Wert wurde mit größeren Flüssigkeitsvolumina im Rahmen einer herkömmlichen Trinkwasserimpfung ermittelt. Höhere Impfdosen bedingen nach den Untersuchungen von WINTERFIELD (54) einen

höheren Titeranstieg, werden aber ohne klinische Erscheinungen reaktionslos vertragen.

In letzter Zeit sind Untersuchungen über die Möglichkeit der Übertragung des Impfvirus in ausreichenden Mengen von einem Tier auf das andere angestellt worden (horizontale Ausbreitung) (31,37). MONREAL und Mitarb. stellen diese Möglichkeit im Hinblick auf die Höhe der Minimaldosis in Frage. LANDGRAF und VIELITZ (31) fanden eine belastbare Immunität bei ungeimpften Kontrolltieren, die sie nach der Impfung zu den mit Stamm LaSota vakzinierten Tieren dazu setzten (3 Tage nach Spray, 8 Std. nach Trinkwasserimpfung).

Zur Immunisierung der Geflügelbestände in der heutigen Form der Massentierhaltung wird in erster Linie die perorale Vakzination mit den lentogenen Stämmen Hitchner B₁ und LaSota über das Trinkwasser angewendet. Die ersten Angaben über die perorale Immunisierung liegen bereits aus dem Jahre 1948 (16) vor. In der Folgezeit sind umfangreiche Untersuchungen auf diesem Gebiet angestellt worden (siehe u.a. Literatur bei GRATZL-KÖHLER und bei LANCASTER) (15,29). Übereinstimmend wird berichtet, daß die Trinkwasser-Impfung bei Einhaltung einer Minimaldosis (37,38,54) und unter Beachtung der Tatsache, daß das lebende Impfvirus wegen seiner Empfindlichkeit möglichst rasch aufgenommen werden sollte (14,43), zu guten Impferfolgen führt (14,20, 30,31,33,37,43,48,54,55,56).

KENTRUP (25) weist in seinen Untersuchungen auf die Problematik der Trinkwasser-Impfung und deren Fehlermöglichkeiten hin. Er kommt zu dem Schluß, daß laufende Immunitätskontrollen in Form von Titerbestimmungen wünschenswert sind, wenn Herden unter Praxisbedingungen geimpft werden.

Wiederholt wird auf den nachteiligen Einfluß der maternalen Antikörper bei der Trinkwasser-Vakzination hingewiesen (11, 14, 20, 31, 48, 54, 55). Hinsichtlich der Verträglichkeit gibt es keine Bedenken. Ein negativer Einfluß auf die Legeleistung wurde übereinstimmend verneint (7, 11, 33).

Zur Immunitätsprophylaxe gegen atypische Geflügelpest in der Massentierhaltung wird die Trinkwasser-Impfung mit der Anwendung parenteraler Impfungen zu verschiedenen Impfprogrammen kombiniert, bei deren sachgemäßer Anwendung gute Ergebnisse erzielt worden sind (30). Dabei werden dem Stamm LaSota bessere immunisierende Eigenschaften zugeschrieben (31, 38, 56, 57).

Über die Möglichkeit der Immunisierung auf respiratorischem Wege sind Untersuchungen im Gange, seitdem die Möglichkeit des Einsatzes lentogener Stämme besteht (17). Das Impfvirus wird hauptsächlich in Form einer wässerigen Lösung versprüht.

Widersprüchliche Angaben liegen dabei bisher über die Größe der applizierten Partikel vor. Die Angaben variieren von 2 - 4 μ (17), 1 - 10 μ (12), 1 - 40 μ (6, 50) bis zu 50 μ (14). Keiner der Autoren macht Angaben über die Bestimmung der Teilchengröße. Als wichtig wird bei der Vakzination über den Atmungstrakt angesehen, daß die virushaltigen Partikel nicht zu tief in die Atemwege eindringen (14, 50). Das Lungengewebe gestattet eine besonders rasche und ausgiebige Virusresorption (15), was zu stärkeren Impfreaktionen führen kann. Bei Eintagsküken ist dies wahrscheinlich die Ursache für erhöhte Verluste (36, 50). Aus diesem Grunde scheinen Aerosole für die Sprayvakzination ungeeignet zu sein, da diese lange Zeit in der Luft schwebefähig sind und bis in das Lungengewebe eingeatmet werden. Aerosole sind physikalisch definiert mit einer

Partikelgröße von unter 10μ (32). Sprays mit Teilchengrößen über 10μ werden als Nebel bezeichnet, die in der Luft nicht mehr schwebefähig sind. Beim Einatmen schlagen sich die Nebeltröpfchen bereits auf den Schleimhäuten der oberen Atemwege nieder. Aus den Untersuchungen von PORSTENDÖRFER (39) geht hervor, daß sich inhalierte Teilchen in der feuchten Atmosphäre der oberen Atemwege rasch vergrößern können. Er fand heraus, daß Aerosolpartikel je nach eigenen osmotischen Eigenschaften in der menschlichen Lunge eine bis ca. 8-fache Volumenvergrößerung erfahren.

Übereinstimmend wird von allen Autoren die Sprayvakzination gegenüber allen anderen Applikationsformen als am besten antikörperstimulierend angesehen (3,11,31,47). Dies gilt sowohl für die Ausbildung humoraler Antikörper (höchste Titer) (3,47), als auch für die Resistenz gegenüber aero-gener Infektion (lokal wirksame Antikörper) (3).

Hinsichtlich der Verträglichkeit der Impfung hatten JOHNSON und GROSS (21) gute Ergebnisse. Sie immunisierten 1 - 2 Tage alte Küken mit einer vernebelten Nasal-Vakzine und erzeugten eine gute Immunität ohne nennenswerte Verluste. HITCHNER und REISING (18) dagegen beobachteten bei Tieren, die erstmalig im Alter von 3 - 9 Wochen sprayvakziniert wurden, erhöhte Verluste an intercurrenten Erkrankungen. Wenn die Sprayvakzination als Revakzination durchgeführt wird, können Legehennen ohne Beeinträchtigung der Legeleistung dieser Impfung unterzogen werden (2,11,14).

Hinsichtlich des Einflusses der ND-Sprayvakzination auf Impfungen gegen andere Infektionskrankheiten des Geflügels berichten einige Autoren über gute Ergebnisse bei Kombination von ND- und IB-Sprayvakzinen (13,40).

Dagegen haben Untersuchungen über den Einfluß anderer Viruserkrankungen des Geflügels auf die Immunantwort nach Vakzinationen gegen Newcastle-Disease ergeben, daß das Gumboro-Virus bei nachfolgenden Impfungen mit ND-Vakzine die Höhe des Antikörperspiegels nachteilig beeinflusst (1).

Zur Kontrolle des Erfolgs der durchgeführten Impfungen wurde von den meisten Autoren die Bestimmung der hämagglutinationshemmenden Antikörper durchgeführt. Die Durchführung des Hämagglutinationshemmungstestes ist labortech-nisch kein Problem. Bei Verwendung stets des gleichen Test-antigens erhält man vergleichbare Titer (45). Durch die Einführung der Titerkennzahl (TKZ) (23), die den Logarithmus des Titerwertes zur Basis 2 darstellt, kann man die gefunde-nen Werte als rationale Zahlen ausdrücken.

KALETA und Mitarb. definieren wörtlich: "Weil der Logarith-mus des geometrischen Mittels gleich dem arithmetischen Mittel der einzelnen Logarithmen ist, ist ein aus den TKZ gebildetes arithmetisches Mittel und dessen Standardab- weichung aus einer Form der geometrischen Normalverteilung herzuleiten." (24) Deshalb liegen die ermittelten Titer-kennzahlen einer untersuchten Stichprobe im Bereich der Normalverteilung, wenn eine ausgeglichene Immunitätsver-teilung in der Herde vorliegt.

Eine zusätzliche Methode der Immunitätskontrolle ist die Testinfektion mit virulenten Stämmen, die außer bei der intramuskulären Applikation auch über die lokal wirksamen Antikörper Auskunft zu geben vermag (3,4).

Bei der Durchführung von Massenimpfungen mit der Spray-Methode stellt das im Stall vernebelte Impfvirus eine gesundheitliche Gefahr für den Menschen dar. Es ist be-kannt, daß das Virus der Geflügelpest beim Menschen zu

Erkrankungen führt (Konjunctivitis, Lymphknotenschwellung, Entzündung der oberen Atemwege) (19,58). Ebenso wie das velogene ND-Virus kann auch das lentogene Impfvirus zur Erkrankung des Menschen führen. HITCHNER und REISING (18) berichten über die Erkrankung von 3 Personen an Konjunctivitis, die mit der Durchführung von Spray-Impfungen beauftragt waren. Bei der ersten Erkrankung wurde der Vakzine-Stamm von der erkrankten Bindehaut isoliert. Bei den von ANDRÉ (2) durchgeführten Spray-Impfungen erkrankten 2 Personen ebenfalls an Konjunctivitis. Von beiden Autoren wird die Gefahr für den Menschen als nicht sehr groß angesehen. Es traten im Verhältnis zur Anzahl der mit Spray-Impfungen beschäftigten Personen nur wenige Krankheitsfälle auf. Daß in der vorliegenden Literatur nur über wenige Fälle von Impfinfektionen beim Menschen berichtet wird, mag daran liegen, daß fast alle Autoren Spray-Vakzinationen unter Labor-Bedingungen mit räumlich begrenzter Ausbreitung des Impfnebels vornahmen.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Tiermaterial und Tierhaltung

Für die vorliegenden Versuche standen insgesamt 2180 Legehybrid-Küken zur Verfügung. Davon waren 1576 der normalen Produktion einer Brüterei entnommen und stammten aus drei verschiedenen Schlüpfen der gleichen Elterntierherde. Die Küken wurden am 1. Lebenstag gegen Marek'sche Krankheit schutzgeimpft.

604 Küken waren spezifiziert pathogenfreie (SPF) Tiere (Spafas-Valo) und stammten altersentsprechend aus verschiedenen Schlüpfen der gleichen SPF-Elterntierherde.

Die Versuche 1 - 6, bei denen ausschließlich SPF-Küken verwendet wurden, fanden unter weitgehender Abschirmung gegen äußere Einflüsse in Versuchskabinen des Tierhauses des Lohmann Veterinär-Labors in Cuxhaven statt. Die beiden Versuchsgruppen jedes Versuchs befanden sich unter gleichen Klimabedingungen in getrennten Kabinen (5 qm Grundfläche). Sie wurden in Käfigen gehalten, von Hand gefüttert und aus Stülptränken mit Wasser versorgt.

Die Versuche 7 - 10, in denen die Vakzination unter normalen Aufzuchtbedingungen durchgeführt werden sollte, fanden in einem Aufzuchtbetrieb mit einer Kapazität von 72.000 Tieren in der Nähe Cuxhavens statt. Die beiden Versuchsgruppen jedes Versuchs befanden sich in zwei getrennten Räumen mit ca. 15 qm Grundfläche. Die Tiere wurden in Batterien gehalten und von Hand gefüttert. Die Wasserversorgung geschah durch Nippeltränken. Die Kontrolltiere zu den Versuchen 7 und 8 wurden in einem gleichgroßen dritten Raum unter gleichen Versuchsbedingungen

gehalten. Temperatur und Luftfeuchtigkeit konnten in allen drei Räumen mittels Thermohydrographen registriert werden.

Die Belastungsinfektionen (Challenge) mit Geflügelpestvirus Stamm EK 1624 wurden in streng isolierten Testkabinen des Tierhauses in Cuxhaven vorgenommen. Die Tiere befanden sich in der Challenge-Kabine für jeweils 14 Tage in Bodenhaltung.

3.2. Impfstämme und Bestimmung des Virusgehaltes der Vakzinen

Zur Immunisierung im Sprayverfahren wurden handelsübliche Trinkwasser-Lebendvakzinen der lentogenen Virusstämme Hitchner B₁ und LaSota verwendet. Die lyophilisierten Vakzinen wurden unmittelbar vor dem Vernebeln in einer bestimmten Wassermenge gelöst.

Die Bestimmung des Virusgehaltes der verwendeten Vakzinen wurde vom Lohmann Veterinär-Labor an Ampullen der gleichen Chargen durchgeführt

Der Virusgehalt betrug bei

Op.-Nr. 247 A Impfstamm Hitchner B ₁ (Versuch Nr. 2)	$10^{9.61} \text{EID}_{50}/100 \text{ Ds.}$ Neuropathogener Index 0,081
Op.-Nr. 259 B Impfstamm Hitcher B ₁ (Versuche 3,4,5,6,7,8)	$10^{10.86} \text{EID}_{50}/500 \text{ Ds.}$ Neuropathogener Index 0,081
Op.-Nr. 508 A Impfstamm LaSota (Versuche 1,3,4,5,6,7,8)	$10^{10.16} \text{EID}_{50}/500 \text{ Ds.}$ Neuropathogener Index 0,118

3.3. Vakzinationstechnik

Bei der Spray-Vakzination gegen atypische Geflügelpest kommt es darauf an, daß das Impfvirus entsprechend der natürlichen Infektion auf die Schleimhäute der oberen Luftwege gelangt.

Die in Wasser gelösten lyophilisierten Vakzinen wurden mit dem Nebelgerät "Microjet-109" der Firma Defensor AG., Zürich versprüht. Das Raumvernebelungsgerät wird elektrisch betrieben und arbeitet nach dem Prinzip der Schleudertellervernebelung. Die Vernebelung geschieht auf mechanischem Wege ohne jede Einwirkung von Wärme.

Mittels eines Regulierventils ist die Ausbringmenge genau einzustellen. Eine verbindliche Angabe der Tröpfchengröße ist bei dem angewandten Vernebelungsprinzip leider nicht möglich. Da das Gerät in einem Bereich zwischen 5 und 60 μ arbeitet (persönliche Mitteilung der Firma), ist es bei Einstellung auf den mittleren und oberen Bereich für die Sprayvakzination geeignet.

An Hand der beigefügten Eichkurve kann die Ausbringmenge in Liter/Min. errechnet werden. Aus der Menge der versprühten Impfviruslösung und der Anzahl der besprühten Tiere wurde die theoretisch mögliche Impfdosis pro Tier berechnet.

Die Tiere wurden jeweils aus einer Entfernung von ca. 50 - 70 cm direkt angesprüht. Es wurde darauf geachtet, daß die Tiere nicht durch Käfigteile gegen den Sprühstrahl abgeschirmt wurden. Sicher trifft ein Teil des Impfnebels auf Käfigteile. Dieser Anteil sollte so gering wie möglich gehalten werden.

Die Sprühzeit wurde so bemessen, daß jedes Tier in dieser Zeit wenigstens zweimal einatmen mußte. Wenn man eine Atemfrequenz von 30/Min. für das Huhn (27) zugrundelegt, bedeutet dies eine Mindestsprühdauer von 4 sec.

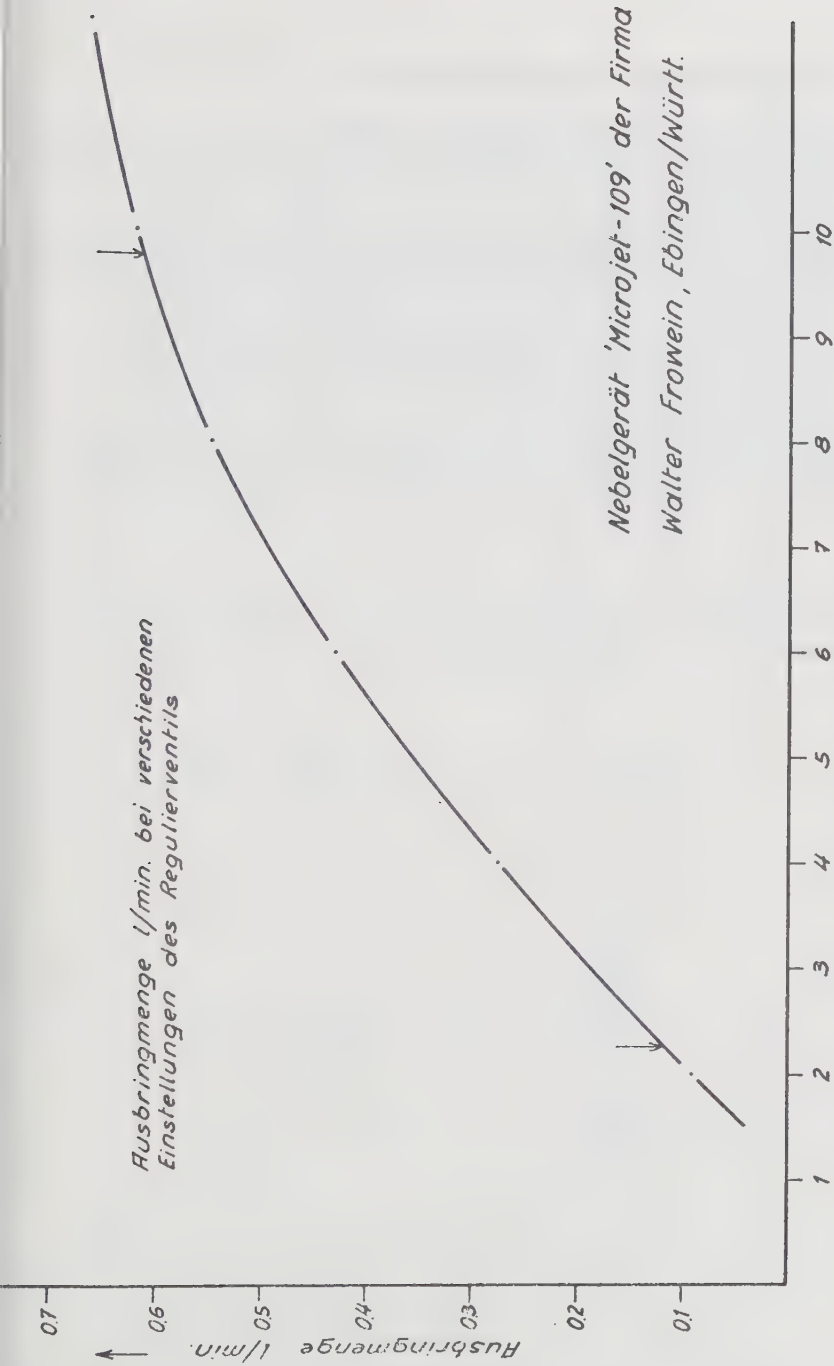
Bei der Durchführung der Versuche wurde vor Beginn jeder Vakzination das Gerät in einem Probelauf mit abgemessener Wassermenge auf die exakte Einhaltung der geförderten Ausbringmenge überprüft.

Die Abb. 1 zeigt die Eichkurve des Nebelgerätes. Die pro Minute versprühte Flüssigkeitsmenge ist in Abhängigkeit von der Einstellung des Regulierventils dargestellt. Die Pfeile an der Kurve markieren die in den Versuchen 1 und 2 gewählte Einstellung.

3.4. Blutprobenentnahme

Die Blutentnahme erfolgte in den meisten Fällen aus der V. ulnaris. Das Blut wurde in Blutröhrchen aufgefangen, die zur besseren Abscheidung des Serums einige Zeit ohne Erschütterung in waagerechter Lagerung belassen wurden. Bei Eintagsküken erfolgte die Blutentnahme durch Herzpunktion von Tieren des gleichen Schlupfes.

Nach Abscheiden des Serums wurde dieses in frische Blutröhrchen umgegossen und bei -18°C bis zur Untersuchung tiefgefroren.



Nebelgerät 'Microjet-109' der Firma
Walter Frowein, Ebingen/Württ.

Einstellung des Regulierventils

Abb. 1

3.5. Hämagglutinationshemmungstest

Der Hämagglutinationshemmungstest (HAH) wurde nach der Mikromethode (Mikrotitersystem) durchgeführt. (24,37,38,49)

Von den zu untersuchenden Seren wurde entsprechend der β -Methode eine Verdünnungsreihe in 2er Potenzen mit 0,025 ml NaCl 0,8 %ig und 0,025 ml Serum hergestellt. Dazu wurde 0,025 ml einer Virusverdünnung des Stammes Montana mit 4 hämagglutinierenden Einheiten gegeben. Nach 10 Minuten Reaktionszeit wurden 0,05 ml einer 0,75 %igen Hühner-erythrozyten-Suspension dazugegeben und nach 35 Minuten Reaktionszeit abgelesen. Der Titer stellt die Verdünnung dar, bei der noch eine eindeutige Hemmung der Agglutination beobachtet wurde.

Zur besseren Auswertung der Ergebnisse wurden die Titer nach KALETA und SIEGMANN (23) in Titerkennzahlen (TKZ) umgerechnet. Die Umrechnung erfolgte mit Hilfe des folgenden Schemas:

HAH-Titer	Titerkennzahl (TKZ)
1 : 1	0
1 : 2	2
1 : 4	3
1 : 8	4
1 : 16	5
1 : 32	6
1 : 64	7
1 : 128	8
1 : 256	9
1 : 512	10
1 : 1024	11

3.6. Belastungsinfektion

Zur Kontrolle der Belastbarkeit der Immunität, die durch die Sprayvakzinationen hervorgerufen worden war, wurden die Tiere oculonasal mit $2 \times 10^9 \text{EID}_{50}$ /Tier des velogenen Stammes EK 1624 infiziert. Zu dem Zweck wurden die Tiere in streng isolierte Challenge-Kabinen des Tierhauses verbracht.

Zur Kontrolle der Infektion dienten je 5 SPF-Tiere bzw. Tiere, die keiner Impfung unterworfen worden waren. Die verendeten Kontrolltiere wurden pathologisch-anatomisch untersucht und in jedem Falle die Symptome der atypischen Geflügelpest festgestellt.

4. ERGEBNISSE

4.1. Vorversuche zur Vakzinationstechnik

In den Versuchen 1 und 2 wurde die Wirkung des Impfstoffnebels auf die Tiere bei verschiedener Einstellung des Regulierventils und damit mit unterschiedlichem Tröpfchenspektrum geprüft. Dabei bedingt die Menge der ausgebrachten Flüssigkeit pro Minute die Tröpfchengröße.

Versuch 1: Stamm LaSota OP.-Nr. 508B

- a) 120 ml/Min.: Regulierventil in Stellung 2,25
Sprühzeit: 8,5 sec.
Ausbringmenge: 15 ml
Konzentration: 500 Ds. in 300 ml Wasser
Errechnete Dosis: $10^{7.38} \text{EID}_{50}/\text{Tier}$
- b) 620 ml/Tier: Regulierventil in Stellung 9,5
Sprühzeit: 4 sec.
Ausbringmenge: 110 ml
Konzentration: 500 Ds. in 775 ml Wasser
Errechnete Dosis: $10^{7.83} \text{EID}_{50}/\text{Tier}$

Versuch 2: Stamm Hitchner B₁ Op.-Nr. 247 A

- a) 120 ml/Min.: Regulierventil in Stellung 2,25
Sprühzeit: 8,5 sec.
Ausbringmenge: 16 ml
Konzentration: 100 Ds. in 60 ml Wasser
Errechnete Dosis: $10^{7.56} \text{EID}_{50}/\text{Tier}$
- b) 620 ml/Min.: Regulierventil in Stellung 9,5
Sprühzeit: 4 sec.
Ausbringmenge: 85 ml
Konzentration: 100 Ds. in 155 ml Wasser
Errechnete Dosis: $10^{7.87} \text{EID}_{50}/\text{Tier}$

Die 4 Versuchsgruppen bestanden aus je 30 SPF-Küken, 14 Tage alt, die in Käfigen in getrennten Räumen des Tierhauses gehalten wurden. Unmittelbar vor der Impfung sowie 14 Tage p.vacc. wurden Blutproben zur Kontrolle des Immunstatus entnommen.

14 Tage nach der Spray-Vakzination wurden die Tiere einer Testinfektion mit Stamm EK 1624 unterzogen. Zur Kontrolle der Infektion wurden je 5 ungeimpfte SPF-Küken dazugesetzt. 14 Tage nach der Testinfektion (Challenge) wurden nochmals Blutproben zur Titerkontrolle entnommen.

Es zeigte sich (Tab. 1 und 2), daß in allen 4 Gruppen keine wesentlichen Unterschiede in der Ausbildung von hämagglutinationshemmenden Antikörpern bestanden. Vom 4. Tage an waren bei allen Versuchen deutlich Atemgeräusche festzustellen, die als kurzes helles Geräusch wahrzunehmen waren und deshalb als "Schnippen" bezeichnet wurden. Diese klinischen Erscheinungen konnten 4 Tage, im Versuch 1b 5 Tage lang beobachtet werden.

14 Tage nach der Vakzination mit LaSota betrugen die arithmetischen Mittel der TKZ bei der Einstellung 2,25 (Versuch 1a) 6,8 und bei der Einstellung 9,5 (Vers. 1b) 5,84. Bei der Vakzination mit Stamm Hitchner B₁ wurden Werte von 5,52 bei Stellung 2,25 und 5,91 bei Stellung 9,5 ermittelt. Die arithmetischen Mittelwerte lagen bei LaSota geringfügig höher (s. Tab. 1).

Nach der anschließenden Testinfektion stiegen die Titer bei den LaSota-geimpften Tieren nur wenig an. Es lag eine gute Immunität vor. Die Verteilung der TKZ war mit einer Normalverteilung in Einklang zu bringen (Abb. 2).

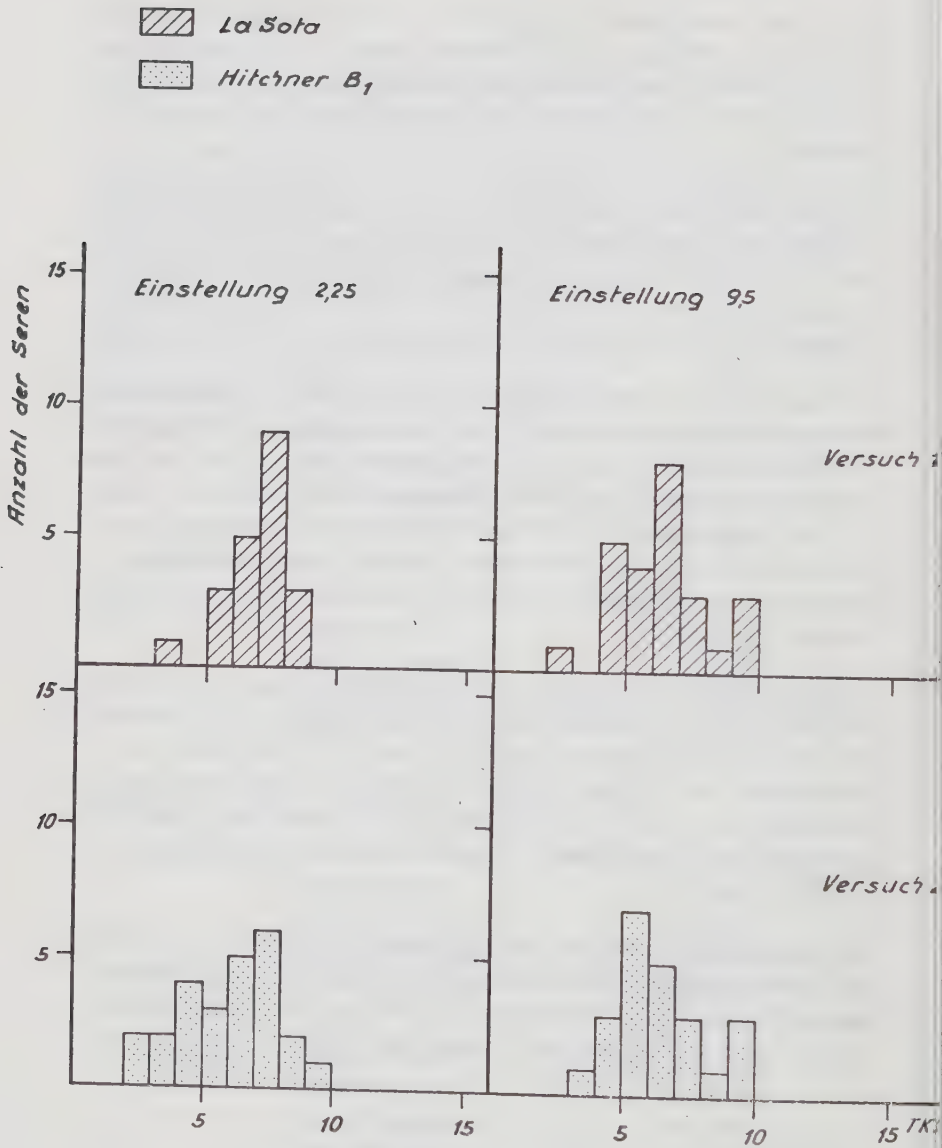


Abb. 2 Vorversuche zur Sprayvakuinationstechnik
(Verteilung der TKZ-Versuche 1 u. 2)

Im Versuch 2 (Hitchner B₁) war der Anstieg der Mittelwerte nach der Testinfektion höher, besonders bei der Einstellung 9,5. Demnach war die Immunität bei diesem Versuch nicht so stabil. Die Titerverteilung war bei der Stellung 2,25 etwas breiter (Tab. 2, Abb. 2).

Die Testinfektion überstanden alle Tiere, die mit größeren Partikeln gesprüht wurden, ohne klinische Reaktion. Bei den Versuchen 1a und 1b zeigten die Tiere leichte Apathie. Ein Tier überlebte die Testinfektion nicht.

Neben der Ausbildung einer ausreichenden Immunität sollte in den beiden Vorversuchen auch geklärt werden, welche Teile der Atemorgane bei verschiedener Tröpfchengröße eine Gewebereaktion zeigen, d.h. wie weit die versprühte Vakzine in die Atemwege eindringt. Zu diesem Zweck wurden aus jeder der 4 Gruppen der Versuche 1 und 2 je 5 Tiere 14 Tage p.vacc. getötet, Trachea und Lunge entnommen und histologisch untersucht.

Die histologische Untersuchung ergab keine Unterschiede in den Gewebereaktionen aller 4 Gruppen. Die Lungen wiesen bei allen Tieren nur wenig entzündliche Impfreaktion auf, während die Schleimhäute der Tracheen und Bronchien bei fast allen Tieren zu diesem Zeitpunkt noch entzündlich verändert waren.

Die Ergebnisse der Versuche 1 und 2 zeigen, daß bei Einstellung des Geräts auf einen Bereich zwischen 2,25 und 9,5 keine Unterschiede im Impferfolg auftraten. Deshalb wurde für die folgenden Versuche die Einstellung 3,5 gewählt, die zwischen diesen beiden Werten lag.

Tab. 1

Versuch 1a			Versuch 1b	
Tage p.vac.	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen
0	0	10 ^{7,38} _{EID} ₅₀ je Tier	0	10 ^{7,83} _{EID} ₅₀ je Tier
1		o.B.		o.B.
2		o.B.		o.B.
3		o.B.		o.B.
4		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
5-8		Leichtes Röcheln		Leichtes Röcheln
9		o.B.		Leichtes Röcheln
10-13		o.B.		o.B.
14	6,8	o.B.	5,84	o.B.
Tage p.i.	Testinfektion 14 Tage p. vac.			
1-3		o.B.		o.B.
4		Kontrolltiere apathisch		Kontrolltiere apathisch
5		Kontrollen tot		Kontrollen tot
6		Impflinge leicht apath., 1 tot		Impflinge o.B.
7		Impflinge leicht apathisch		o.B.
8-13		o.B.		o.B.
14	8,37	o.B.	6,44	o.B.

Versuch 1

Sprayvakzination mit Stamm LaSota bei verschiedener Einstellung
des Regulierventils

Tab. 2

Versuch 2a			Versuch 2b	
Tage p.vac.	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen
0	0	10 ^{7,56} EID ₅₀ je Tier	0	10 ^{7,87} EID ₅₀ je Tier
1		o.B.		o.B.
2		o.B.		o.B.
3		o.B.		o.B.
4		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
5-8		Leichtes Röcheln		Leichtes Röcheln
9-13		o.B.		o.B.
14	5,52	o.B.	5,91	o.B.
Tage p.i,	Testinfektion 14 Tage p.vac.			
1-3		o.B.		o.B.
4		Kontrolltiere apathisch		Kontrolltiere apathisch
5		Kontrollen tot		Kontrollen tot
6		Impflinge leicht apathisch		Impflinge o.B.
7		Impflinge leicht apathisch		o.B.
8-13		o.B.		o.B.
14	7,4	o.B.	10,16	o.B.

Versuch 2

Sprayvakzination mit Stamm Hitchner B₁ bei verschiedener
Einstellung des Regulierventils

4.2. Immunantwort von SPF-Küken bei Sprayvakzination als Erstimpfung in verschiedenem Lebensalter

Versuche 3 - 6

- a) Stamm LaSota: Regulierventil in Stellung 3,5
Op.-Nr. 508 A Sprühzeit: 4 - 5 sec.
Ausbringmenge: 16-20 ml
Konzentration: 500 Ds. in 300 ml Wasser
Errechnete Dosis: $10^{7.41} - 10^{7.52} \text{EID}_{50}/\text{Tier}$
- b) Stamm Hitchner B₁
Op.-Nr. 259 B Regulierventil in Stellung 3,5
Sprühzeit: 4 - 5 sec.
Ausbringmenge: 16-20 ml
Konzentration: 500 Ds. in 300 ml Wasser
Errechnete Dosis: $10^{8.11} - 10^{8.16} \text{EID}_{50}/\text{Tier}$

Die Versuche wurden mit je 30 SPF-Küken im Alter von 2, 16, 30 und 42 Tagen durchgeführt. Die Tiere befanden sich nach Versuchsgruppen getrennt in je einem Käfig in Kabinen des Tierhauses.

Die Blutprobenentnahme erfolgte unmittelbar vor der Impfung, am 6., 11. und 14. Tag p.vacc. und 14 Tage nach der Testinfektion, jeweils von sämtlichen Tieren. Nur im Versuch 3, bei dem die Küken bei Versuchsbeginn 2 Tage alt waren, wurden am Tag der Vakzination von 30 Tieren nur 15 Proben, am 6. Tag ebenfalls nur 15 Proben und am 11. Tag nur 20 Proben entnommen, da dies mit Rücksicht auf die Empfindlichkeit der Tiere ratsam erschien.

14 Tage nach der Spray-Impfung wurde die belastende Infektion durchgeführt.

Die Ergebnisse der Versuche 3 - 6 sind den Tabellen 3 - 6 zu entnehmen.

Die Versuche 3 - 5, bei denen die Küken bei der Erstimpfung 2, 16 oder 30 Tage alt waren, verliefen im wesentlichen gleich. Alle Tiere zeigten vom 4. - 5. Tage p.vacc. an eine Impfreaktion in Form von leichten Atemgeräuschen, die bei den 2 und 16 Tage alten Tieren 5 Tage, bei den 30 Tage alten Tieren nur 2 Tage anhielt.

Den Titerverlauf zeigen die Abb. 3 und 4. Bei der Titerkontrolle 6 Tage p.vacc. wurde nur vereinzelt ein geringer Titeranstieg gefunden. Am 11. Tag waren in allen Versuchsgruppen die Titer auf Mittelwerte zwischen 6,86 und 9,82 angestiegen, die sich bis zum 14. Tag p.vacc. noch geringfügig erhöhten.

Die Verteilung der TKZ 14 Tage p.vacc. ist in Abb. 5 graphisch dargestellt. Sie ist in allen Versuchsgruppen gut, da die Werte annähernd im Bereich der Normalverteilung liegen.

Alle Versuchstiere der Versuche 3 - 5 hatten durch die Spray-Impfung eine gute Immunität ausgebildet und überstanden die Testinfektion ohne klinische Erscheinungen. Die Titer, die 14 Tage nach dem Belastungstest ermittelt wurden, sind bis auf die LaSota-Gruppe des Versuchs 3 noch etwas höher gegenüber den Werten vor der Infektion.

Der Versuch 6, bei dem die Tiere bei der Sprayvakzination 42 Tage alt waren, wich im Ergebnis von den Versuchen 3 - 5 ab. Der Versuch wurde in gleicher Weise wie die vor-

hergehenden durchgeführt. Die Tabelle 6 gibt die Versuchsergebnisse wieder. Die Versuchsgruppe, die mit Stamm La-Sota geimpft wurde, zeigte nach 4-tägiger Impfreaktion (6.-9. Tag) einen Titeranstieg auf 7,27, der bis zum 14. Tag leicht abfiel (6,76). Alle Impflinge hatten eine gute Immunität. Sie zeigten nach der Belastungsinfektion ein ungestörtes Allgemeinbefinden und keinen erneuten Titeranstieg (Abb. 3). Wie aus der Abb. 6 ersichtlich, war die Verteilung der TKZ 14 Tage p.vacc. innerhalb der Versuchsgruppe etwas breit. 4 Tiere hatten keine hämagglutinierenden Antikörper ausgebildet, überlebten jedoch die Testinfektion ohne klinische Erscheinungen.

Die Versuchsgruppe 6b, die mit Hitchner B₁ sprayvakziniert wurde, zeigte keine Impfreaktion. Die Titer stiegen nur bis auf den Wert 3,23 am 11. Tag bzw. 3,16 am 14. Tag p.vacc. an (Abb. 4). Die Darstellung der Verteilung der TKZ am 14. Tag p.vacc. (Abb. 6) nähert sich zwar der Normalverteilung, befindet sich aber überwiegend im Bereich der niedrigen Titer. 3 Tiere hatten keinen Titer, nur 4 Tiere hatten TKZ über 5.

Bei der Testinfektion erwies sich dann die ausgebildete Immunität auch als nicht belastungsfähig. Alle Impflinge erschienen am 5. - 6. Tag p.i. apathisch, 6 von ihnen verendeten in dieser Zeit. Der Titeranstieg bei den überlebenden Tieren auf 9,75 ist auf Grund der geringen Immunität vor der Infektion zu erwarten.

Tabelle 3

Versuch 3a			Versuch 3b	
Tage p.vac.	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen
0	0	$10^{7.41} \text{EID}_{50}$ je Tier	0	$10^{8.11} \text{EID}_{50}$ je Tier
1		o.B.		o.B.
2		o.B.		o.B.
3		o.B.		o.B.
4		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
5		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
6	0	Leichtes Schnippen	0	Leichtes Schnippen
7+8		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
9+10		o.B.		o.B.
11	7,6	o.B.	7,8	o.B.
12+13		o.B.		o.B.
14	8,08	o.B.	8,04	o.B.
Tage p.i.	Testinfektion 14 Tage p.vac.			
5		4 Kontrolltiere tot		4 Kontrolltiere tot
8		1 Kontrolltier tot		1 Kontrolltier tot
14	6,96	Impflinge o.B.	8,3	Impflinge o.B.

Versuch 3:

Sprayvakzination 2 Tage alter SPF-Küken mit den Stämmen
LaSota (3a) und Hitchner B₁ (3b)

Tabelle 4

Versuch 4a			Versuch 4b	
Tage p.vac.	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen
0	0	$10^{7.41} \text{EID}_{50}$ je Tier	0	$10^{8.11} \text{EID}_{50}$ je Tier
1		o.B.		o.B.
2		o.B.		o.B.
3		o.B.		o.B.
4		o.B.		o.B.
5		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
6	0,133	Leichtes Schnippen	0	Leichtes Schnippen
7-9		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
10		o.B.		o.B.
11	9,82	o.B.	6,86	o.B.
12+13		o.B.		o.B.
14	9,33	o.B.	7,23	o.B.
Tage p.i.	Testinfektion 14 Tage p.vac.			
5		2 Kontrolltiere tot		2 Kontrolltiere tot
6		2 Kontrolltiere tot		2 Kontrolltiere tot
7		1 Kontrolltier tot		1 Kontrolltier tot
14	10,21	Impföinge o.B.	8,86	Impföinge o.B.

Versuch 4:

Sprayvakzination 16 Tage alter SPF-Küken mit den Stämmen
LaSota (4a) und Hitchner B₁ (4b)

Tabelle 5

Versuch 5a			Versuch 5b	
Tage p.vac.	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen
0	0	$10^{7.52} \text{EID}_{50}$ je Tier	0	$10^{8.22} \text{EID}_{50}$ je Tier
1		o.B.		o.B.
2		o.B.		o.B.
3		o.B.		o.B.
4		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
5		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
6	0,137	o.B.	0,06	o.B.
7-10		o.B.		o.B.
11	9,03	o.B.	8,96	o.B.
12+13		o.B.		o.B.
14	9,40	o.B.	9,83	o.B.
Tage p.i.	Testinfektion 14 Tage p.vac.			
4		5 Kontrolltiere tot		5 Kontrolltiere tot
14	10,48	Impflinge o.B.	10,79	Impfling o.B.

Versuch 5:

Sprayvakzination 30 Tage alter SPF-Küken mit den Stämmen
IaSota (5a) und Hitchner B₁ (5b)

Tabelle 6

Versuch 6a			Versuch 6b	
Tage p.vac.	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen
0	0	10 ^{7.41} EID ₅₀ je Tier	0	10 ^{8.16} EID ₅₀ je Tier
1		o.B.		o.B.
2		o.B.		o.B.
3-5		o.B.		o.B.
6	0,06	Leichtes Röcheln	0	o.B.
7		Leichtes Röcheln		o.B.
8		Leichtes Röcheln		o.B.
9		Leichtes Röcheln		o.B.
10		o.B.		o.B.
11	7,27	o.B.	3,23	o.B.
12+13		o.B.		o.B.
14	6,76	o.B.	3,16	o.B.
Tage p.i.	Testinfektion			
1		o.B.		o.B.
2		o.B.		o.B.
3		o.B.		Impfl.apath. 2 Tiere tot
4		o.B.		Impfl.apath. 3 Tiere tot
5		o.B.		Impfl.apath. 1 Tier tot
6		o.B.		Impfl.apath.
7		o.B.		o.B.
14	6,8	o.B.	9,75	o.B.
Je 5 Kontrolltiere am 5. Tag verendet				

Versuch 6: Sprayvakzination 42 Tage alter SPF-Küken mit
den Stämmen LaSota (6a) und Hitchner B₁ (6b)

Versuch 6 (Wiederholung)

Da der Versuch 6 in seinen Ergebnissen von den Versuchen 3 - 5 auffallend abweicht, wurde er unter gleichen Haltungsbedingungen noch einmal wiederholt. Da angenommen werden mußte, daß ein Teil der Küken nicht genügend Impfstoff-Sprühlösung erhalten hatte, wurde bei der Wiederholung des Versuchs der Impfstoff stärker verdünnt und damit die Möglichkeit gegeben, eine längere Sprühzeit zu wählen, ohne daß die Tiere den Impfstoff in wesentlich anderer Dosierung erhielten als beim ersten Versuch.

Technische Durchführung des Versuchs:

- a) Stamm LaSota: Regulierungsknopf in Stellung 3,5
Op.-Nr. 508 A Sprühzeit: 10 sec.
 Ausbringmenge: 40 ml
 Konzentration: 500 Ds. in 500 ml Wasser
 Errechnete Dosis: $10^{7.58} \text{EID}_{50}/\text{Tier}$
- b) Stamm Hitchner B₁: Regulierventil in Stellung 3,5
Op.-Nr. 259 B Sprühzeit: 10 sec.
 Ausbringmenge: 45 ml
 Konzentration: 500 Ds. in 500 ml Wasser
 Errechnete Dosis: $10^{8.33} \text{EID}_{50}/\text{Tier}$

Die Blutproben wurden am Tag der Vakzination, am 8. und 14. Tag p.vacc. und 14 Tage nach der Testinfektion entnommen.

Die Tabelle 7 zeigt die Ergebnisse des Wiederholungsversuchs. Nach der Impfung mit LaSota erfolgte eine etwas schwächere Impfreaktion und ein etwas geringerer Titeranstieg (5,63 gegenüber 6,76) (Abb. 3). Die Verteilung der

TKZ ist insofern günstiger, als in dieser Versuchsgruppe alle Tiere einen Titer ausbildeten (Abb. 6).

Trotzdem ist die Immunität im Gegensatz zur ersten Durchführung des Versuchs weniger belastungsfähig, denn es kommt nach der Testinfektion zu einem Titeranstieg. Außerdem überlebt eines der Tiere die Belastungsinfektion nicht.

Nach der Spray-Vakzination mit Stamm Hitchner B₁ zeigten die Küken diesmal eine Impfreaktion in Form leichter Atemgeräusche und die Ausbildung höherer Titer (4,73 gegenüber 3,16) (Tab. 7). Die Auswirkung der Testinfektion in dieser Versuchsgruppe ist aber nahezu die gleiche wie bei der ersten Durchführung dieses Versuchs. Am 4. und 5. Tag p.i. verenden 7 geimpfte Tiere. Außerdem steigt der Titer auch wieder innerhalb von 14 Tagen von 4,73 auf 8,37 an (Abb. 4). Die Verteilung der TKZ ist zu breit (Abb. 7), wobei 9 Tiere Werte zwischen 0 und 3 zeigen. Die übrigen Tiere liegen in ihren Werten zwischen TKZ 5 und 8.

Da der Versuch 6 bei beiden Durchführungen ähnliche Ergebnisse hatte, ist ein technischer Fehler bei der Impfung unwahrscheinlich.

Insbesondere ist der schlechte Impfschutz der mit Hitchner B₁ geimpften Tiere auffallend. Da die Küken im Alter von 42 Tagen im Gegensatz zu den Versuchstieren der Versuche 3 - 5 bereits wesentlich größer sind, ist es möglich, daß diese Tiere sich gegenseitig so verdecken, daß einzelne Impflinge nicht genügend Impfvirus erhalten. Dies wirkt sich beim Stamm LaSota nicht so deutlich aus, da diesem Stamm bessere antigene Eigenschaften zugeschrieben werden (31,38,56,57). Außerdem ist evtl. die Möglichkeit einer horizontalen Ausbreitung der Impfinfektion beim Stamm LaSota zu berücksichtigen (31).

Tabelle 7

Versuch 6a			Versuch 6b	
Tage p.vac.	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen	HAH (Arithmet. Mittelwert der TKZ)	Klinische Erscheinungen
0	0	$10^{7.58} \text{EID}_{50}$ je Tier	0	$10^{8.33} \text{EID}_{50}$ je Tier
1-5		o.B.		o.B.
6		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
7		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
8	1,44	Leichtes Schnippen	0,23	Leichtes Schnippen
9		Leichtes Schnippen		Leichtes Schnippen
10-13		o.B.		o.B.
14	5,63	o.B.	4,73	o.B.
Tage p.i.	Testinfektion 14 Tage p.vac.			
1		o.B.		o.B.
2		o.B.		o.B.
3		o.B.		o.B.
4				4 Impflinge tot
5		1 Impfling tot		3 Impflinge tot
6		o.B.		o.B.
7-13		o.B.		o.B.
14	8,34	o.B.	8,37	o.B.
Je 5 Kontrolltiere am 5. Tag verendet				

Versuch 6: (Wiederholung)

Sprayvakuination 42 Tage alter SPF-Küken mit den Stämmen LaSota (6a) und Hitchner B₁ (6b)

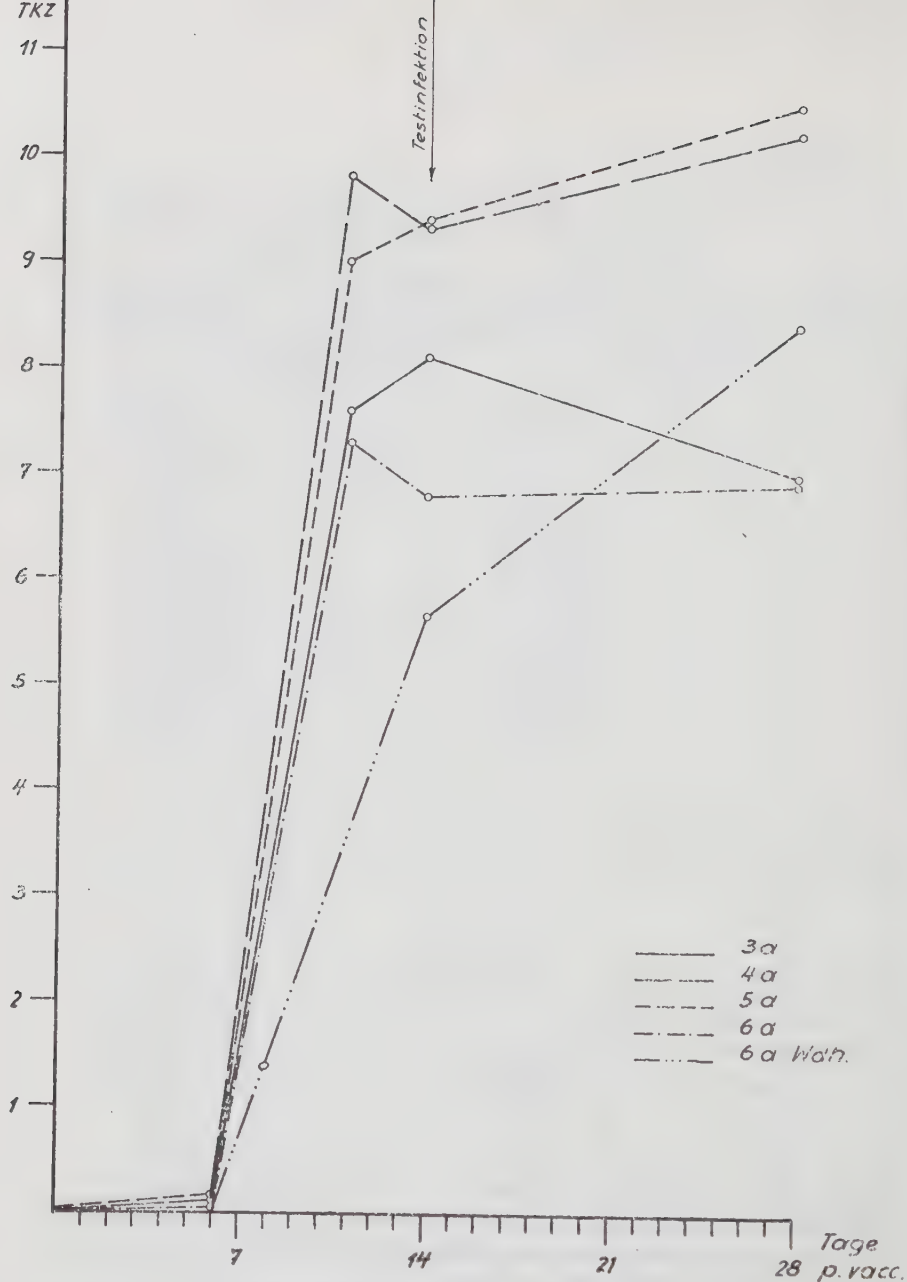


Abb. 3 Immunantwort von SPF-Küken bei
Sprayvakuination mit Stamm LaSota
als Erstimpfung in verschiedenem Lebens-
alter (Arithmetische Mittelwerte der TKZ aus Vers. 3-6)

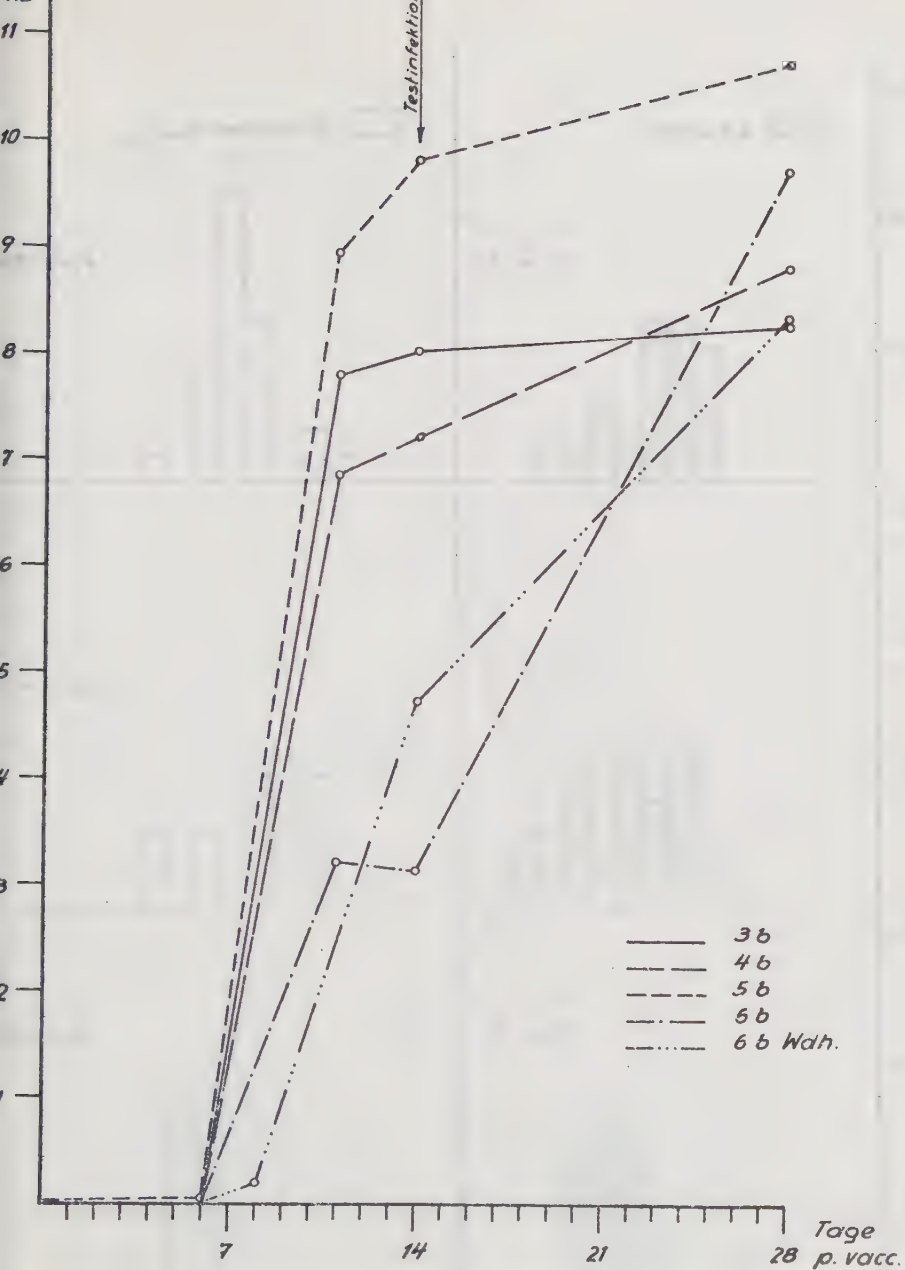


Abb. 4 Immunantwort von SPF-Küken bei Sprayvaktination mit Stamm Hitchner B₁ als Erstimpfung in verschiedenem Lebensalter (Arithmetische Mittelwerte der TKZ aus Vers. 3-6)

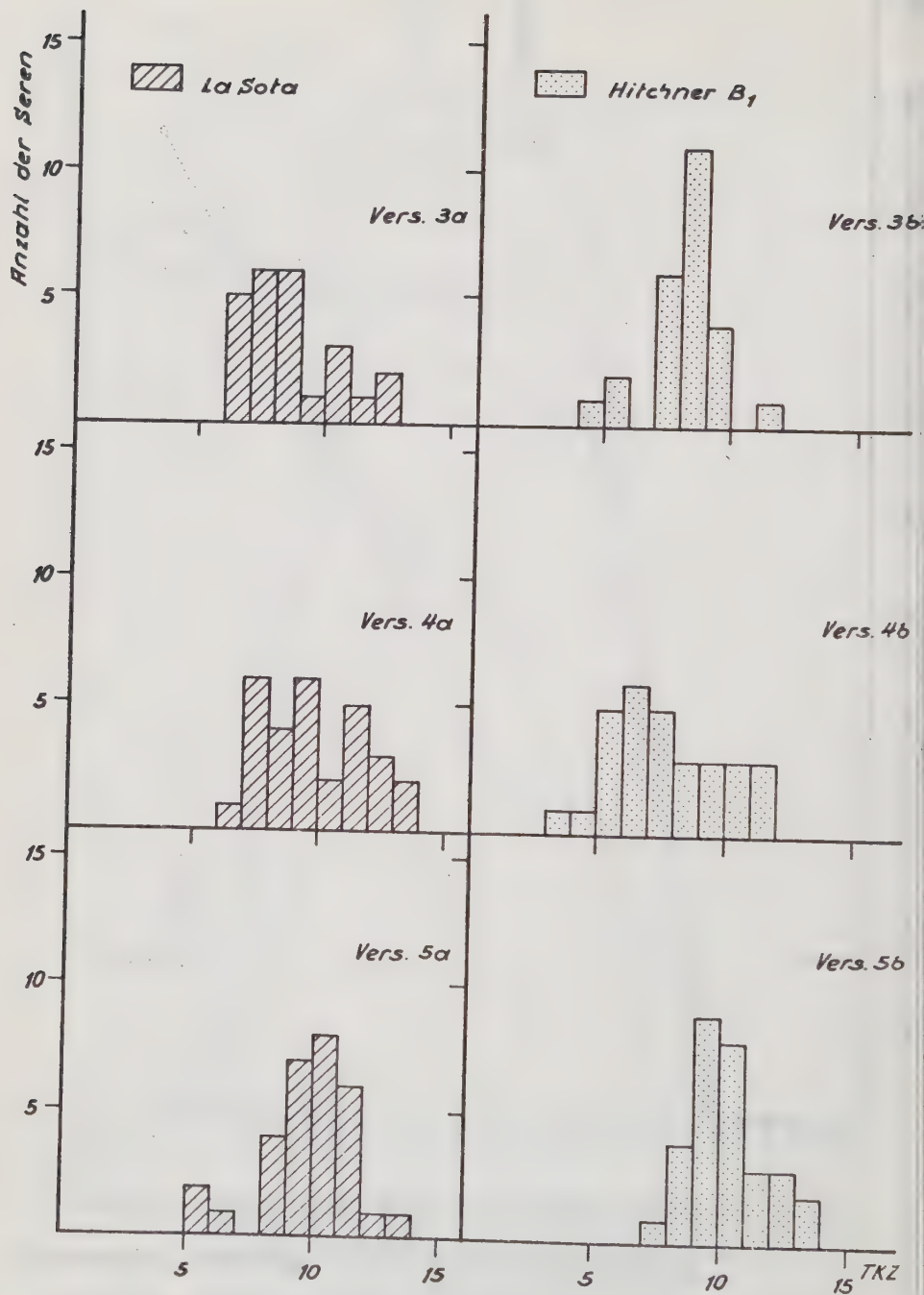


Abb. 5 Verteilung der TKZ 14 Tage nach
 Spray-Vakzination als Erstimpfung

 *La Sota*
 *Hitchner B₁*

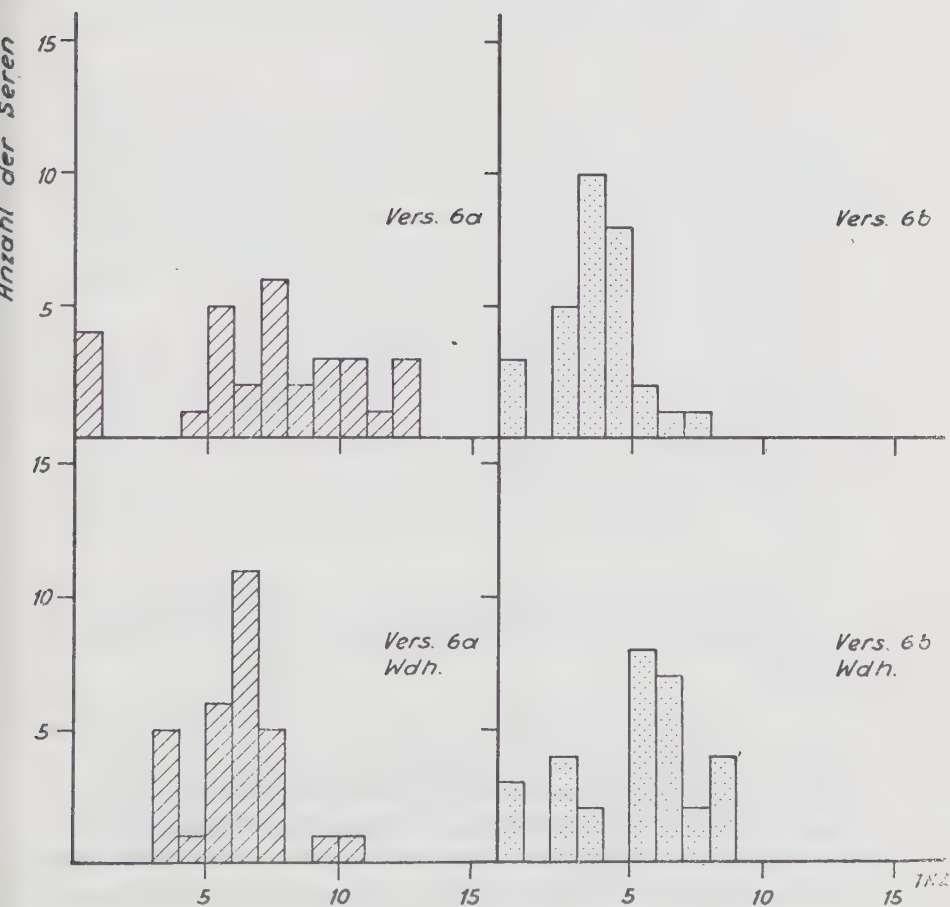


Abb. 6 Verteilung der TKZ 14 Tage nach
 Spray-Vakzination als Erstimpfung
 im Alter von 42 Tagen

4.3. Immunitätsbildung durch Sprayvakzination unter normalen Aufzuchtbedingungen

Versuch 7

Zu diesem Versuch wurden insgesamt 730 Hähne und 340 Hennen in drei getrennte, kleine Aufzuchträume eines Aufzuchtbetriebes eingestallt. Die Küken wurden am 1. Lebenstag gegen Marek'sche Krankheit Schutzgeimpft.

Die Elterntiere dieser Küken waren zur Zeit der Eiablage 27 Wochen alt und im Rahmen des normalen Impfprogramms im Alter von 18 Wochen der letzten Geflügelpest-Impfung mit Lebendvirus-Adsorbat-Vakzine Stamm Hitchner B₁ unterworfen worden. 10 Tage nach der Ablage der entsprechenden Bruteier wurde bei diesen Tieren eine durchschnittliche Titerkennzahl von 5,72 (25 Blutproben) ermittelt.

Die Versuchstiere befanden sich als Eintagsküken in je einem Raum in den oberen Käfigen einer 3-etagigen Batterie. Die Räume wurden mit je 2 Gasstrahlern beheizt, die jeweils über der Batterie befestigt waren. Temperatur und Luftfeuchtigkeit konnten mit Thermohydrographen registriert werden.

In einem dritten Raum wurden 37 Hähne und 40 Hennen als Kontrolltiere in Käfigen unter gleichen Aufzuchtbedingungen gehalten.

In den ersten 5 Wochen kam es zu technischen Störungen, die das Stallklima sehr ungünstig gestalteten. Durch die Undichtigkeit einer Wasserleitung sammelte sich auf dem Boden unter der Batterie mehrmals Wasser an. Dadurch war die Luftfeuchtigkeit sehr hoch (70 - 90 %). Die ungünstigen Stallbedingungen führten zu hohen Anfangsverlusten bei den

Versuchstieren. Die Todesursachen waren am Anfang Omphalitis und Ertrinken von Küken, die aus der Batterie auf den Stallboden gelangt waren. Die Gesamtverluste betrugen in der 1. Woche 55 Küken, in der 2. Woche 23 Küken.

Im Alter von 14 Tagen wurden die Küken nach Selektion auf je 270 Tiere der Sprayvakzination unterworfen. Drei Tage danach fiel durch einen Bedienungsfehler in jedem der drei Räume je ein Strahler aus. Dadurch kam es zu einem Absinken der Temperatur von 28° auf 12° C für die Dauer von ca. 12 Stunden. Dadurch stieg auch die Luftfeuchtigkeit von inzwischen 50 - 60 % auf 80 % an. Danach erhöhten sich die Verluste. Sie betrugen in der Gruppe 7a in der 3. Woche 12 Tiere, in der 4. Woche 41 Tiere und in der 5. Woche 17 Tiere. In der Gruppe 7b starben in der 3. Woche 5 Tiere, in der 4. Woche 22 Tiere und in der 5. Woche 34 Tiere.

Als Todesursache wurden Infektionen mit Diplokokken, Mikrokokken und coliformen Keimen festgestellt. Eine Behandlung wurde nicht durchgeführt. Von der 6. Woche an normalisierten sich die Verluste und betrugen bis zum Ende der Beobachtungszeit in der Gruppe 7a 5 Tiere und in der Gruppe 7b 4 Tiere. Deshalb wurde der Versuch trotz anfänglicher Bedenken fortgeführt.

Zur Titerbestimmung wurden am Tag der Einstallung aus jeder Versuchsgruppe 30 Tiere, bei allen Blutentnahmen bis zu einem Alter von 28 Tagen je 25 Tiere getötet und das Serum im HAH untersucht. Wie aus den Tabellen 8 und 9 ersichtlich, wurden zur Prüfung der Belastbarkeit der durch Titerbestimmung ermittelten Immunität insgesamt fünfmal Tiere aus dem Versuch entnommen und einer Belastungsinfektion unterzogen (je 10 Tiere und 5 Kontrollen). Die übrigen Titerbestimmungen wurden an jeweils 25 - 30 Blutproben vorgenommen, die durch Punktion der V. ulnaris von

Tieren aus allen Käfigen der Batterie gewonnen wurden.

Die Versuchstiere wurden im Aufzuchtbetrieb bis zur 18. Lebenswoche beobachtet. Danach gingen aus der Gruppe a) 20 Hennen, aus der Gruppe b) 30 Hennen an zwei bäuerliche Betriebe, wo sie in Einzel- bzw. Zweierkäfigen gehalten wurden. Diese Tiere sind im Alter von 29 Wochen nochmals sprayvakziniert worden.

Angaben zur Technik der Sprayvakzination:

	Versuch 7a LaSota Op.-Nr.508A	Versuch 7b Hitchner B ₁ (259B)
14 Tage:Regulierungsknopf in		
Stellung	3,5	3,5
Sprühzeit:	37 sec.	40 sec.
Ausbringmenge:	158 ml	174 ml
Konzentration:	500 Ds.in 300 ml Wasser gelöst	
Dosis:	10 ^{7.45} EID ₅₀ je Tier	10 ^{8.19} EID ₅₀ je Tier
12 Wo.: Regulierungsknopf in		
Stellung	3,5	3,5
Sprühzeit:	54 sec.	72 sec.
(9 Käfige à 7 Tiere)		(12 Käfige à 7 Tiere)
Ausbringmenge:	500 Ds. in 1666 ml Wasser gelöst	
Dosis:	10 ^{7.43} EID ₅₀ je Tier	10 ^{8.13} EID ₅₀ je Tier
29 Wo.: Regulierungsknopf in		
Stellung	3,5	3
Sprühzeit:	12 sec.	14 sec.
(20 Hennen)		(30 Hennen)
Ausbringmenge:	50 ml	45 ml
Konzentration:	500 Ds. in 1000 ml Wasser gelöst	
Dosis:	10 ^{7.56} EID ₅₀ je Tier	10 ^{8.03} EID ₅₀ je Tier

Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 8 und 9 zusammengefaßt und in den Abb. 7 - 10 graphisch dargestellt.

In beiden Versuchsgruppen waren maternale Antikörper mit einer durchschnittlichen TKZ um 2 vorhanden, die im Verlauf von 16 Tagen auf den Wert 0,61 absanken. Die maternalen Antikörper vermochten die Küken am 1. und am 14. Lebenstag nicht gegen eine oculonasale Testinfektion zu schützen.

Nach der 1. Impfung im Alter von 2 Wochen erfolgte vom 4. Tage an eine Impfreaktion in Form von leichten Atemgeräuschen (5 Tage lang). Die Titer waren 14 Tage p.vacc. auf TKZ 7,53 (LaSota) bzw. 5,81 (Hitchner B₁) angestiegen und die Verteilung der TKZ war gut, besonders bei der LaSota-Gruppe. Bei der belastenden Infektion 14 Tage p.vacc. waren alle Tiere geschützt.

4 Wochen nach der Impfung war der arithmetische Mittelwert der TKZ bei den mit Hitchner B₁ geimpften Tieren zwar noch leicht angestiegen (von 5,81 auf 6,82), aber die Verteilung der TKZ war zu breit.

Im Alter von 12 Wochen wurden beide Versuchsgruppen erneut geimpft, als die Titer bereits wieder fallende Tendenzen hatten. (LaSota 3,7; Hitchner B₁ 4,58). Danach stiegen die Titer bis 4 Wochen p.vacc. leicht an und die Immunität erwies sich bei der Testinfektion als voll belastungsfähig. Die Verteilung der TKZ ist 2 Wochen nach der Impfung noch etwas breit. 4 Wochen p.vacc. erscheinen die Werte weniger gestreut.

Im Alter von 29 Wochen wurden 20 Hennen mit LaSota und 30 Hennen mit Hitchner B₁ einer 3. Sprayvakzination unterzogen. Sie zeigten danach weder Beeinträchtigung der Legeleistung (77 - 80 %), noch irgendeine andere Impfreaktion,

obwohl zur Zeit der Impfung die Stalltemperatur nur 10° bzw. 11° C betrug. Auch nach dieser Impfung stiegen die Titer wieder leicht an, und zwar bei LaSota von 2,95 auf 4,73 und bei Hitchner B₁ von 4,1 auf 6,0. Die Verteilung der TKZ ist auch nach der 3. Impfung ein wenig zu breit, besonders wieder bei den mit Hitchner B₁ geimpften Hennen.

Die graphische Darstellung des Titerverlaufs in Abb. 7 zeigt, daß bei alleiniger Betrachtung der arithmetischen Mittelwerte der TKZ sowohl mit dem Stamm LaSota, als auch mit Hitchner B₁ ein steiler Titeranstieg bei der Erstimpfung erzeugt werden kann, und daß man durch Revakzination mit beiden Stämmen eine gleichmäßige Titerhöhe halten kann.

Bei der Betrachtung der Verteilung der TKZ innerhalb der Gruppe (Abb. 8 - 10) fällt auf, daß bei Vakzination mit Stamm LaSota die Werte häufiger innerhalb der Normalverteilung liegen, daß dagegen die Hitchner-Werte nach der Impfung breiter gestreut sind. Da dem Stamm LaSota im allgemeinen bessere antigene Eigenschaften zugeschrieben werden (31,38,56,57), ist für das einzelne Tier die Möglichkeit, auch schon bei Aufnahme einer geringeren Impfdosis einen Impftiter auszubilden, größer. Daher läßt sich die geringere Streuung der Titer in dieser Versuchsgruppe erklären.

Tabelle 8

Alter	H A H (Airthmetischer Mittelwert der TKZ)			Testinfektion		
	Versuchs- tiere	Ungeimpfte Kontrollen	Klinische Erscheinungen	Versuchs- tiere inf./tot	Kontrollen inf./tot	Klinische Erscheinungen d. Versuchstiere
0 4 Tg. 8 Tg. 12 Tg. 14 Tg. 16 Tg. 18 Tg. 22 Tg. 4 Wo. 5 Wo. 6 Wo. 8 Wo. 10 Wo. 12 Wo.	2,40 2,37 2,44 1,07 1,56 0,61 3,80 7,53 6,65 6,30 5,00 5,26 3,70		1. Impfung 10 ⁷ . ⁴⁵ EID ₅₀ /Tier Beginn der Impfreaktion Atemgeräusche 5 Tage lang	10/10 10/10 10/0	SPF 5/5 5/5 SPF 5/5 5/5 SPF 5/5 5/5	Tiere verendeten 4-7 Tage p.i. Tiere verendeten 4-7 Tage p.i. o.B.
14 Wo. 16 Wo. 20 Wo. 29 Wo. 33 Wo.	4,78 5,10 3,90 2,95 4,73	0,2	2. Impfung 10 ⁷ . ⁴³ EID ₅₀ /Tier Leichte Atemgeräusche am 5. und 6. Tag p.vacc. 3. Impfung 10 ⁷ . ⁵⁶ EID ₅₀ /Tier Keine Atemgeräusche	10/0 10/0	SPF 5/5 5/5 5/5	o.B. o.B. o.B.

Versuch 7a:
 Sprayvakkination konventioneller Aufzuchtküken mit Stamm LaSota

Tabelle 9

Alter	H A H (Arithmetischer Mittelwert der TKZ)			Testinfektion		
	Versuchstiere	Ungeimpfte Kontrollen	Klinische Erscheinungen	Versuchstiere inf./tot	Kontrollen inf./tot	Klinische Erscheinungen d. Versuchstiere
0	2,22			10/10	SPF 5/5	Tiere verendeten 4-10 Tage p.i.
4 Tg.	2,66				5/5	
8 Tg.	2,14					
12 Tg.	1,65					
14 Tg.	0,88					
16 Tg.	0,61					
18 Tg.	1,52					
22 Tg.	5,81		1. Impfung 10 ^{8.19} EID ₅₀ /Tier Beginn der Impfreaktion Leichte Atemgeräusche 2 Tage	10/10	SPF 5/5	Tiere verendeten 4-7 Tage p.i.
4 Wo.	6,14			9/0	SPF 5/5	
5 Wo.	6,82					
6 Wo.	5,78	neg.				
8 Wo.	4,93	neg.				
10 Wo.	4,58	neg.				
12 Wo.	4,63	0,2				
14 Wo.	5,0					
16 Wo.	4,26					
20 Wo.	4,10		2. Impfung 10 ^{8.13} EID ₅₀ /Tier keine Atemgeräusche	10/0	SPF 5/5	
29 Wo.	6,0		3. Impfung 10 ^{8.03} EID ₅₀ /Tier keine Impfreaktion	10/0	5/5	
33 Wo.					5/5	

Versuch 7b:
Sprayvakuination konventioneller Aufzuchtküken mit Stamm Hitchner B₁

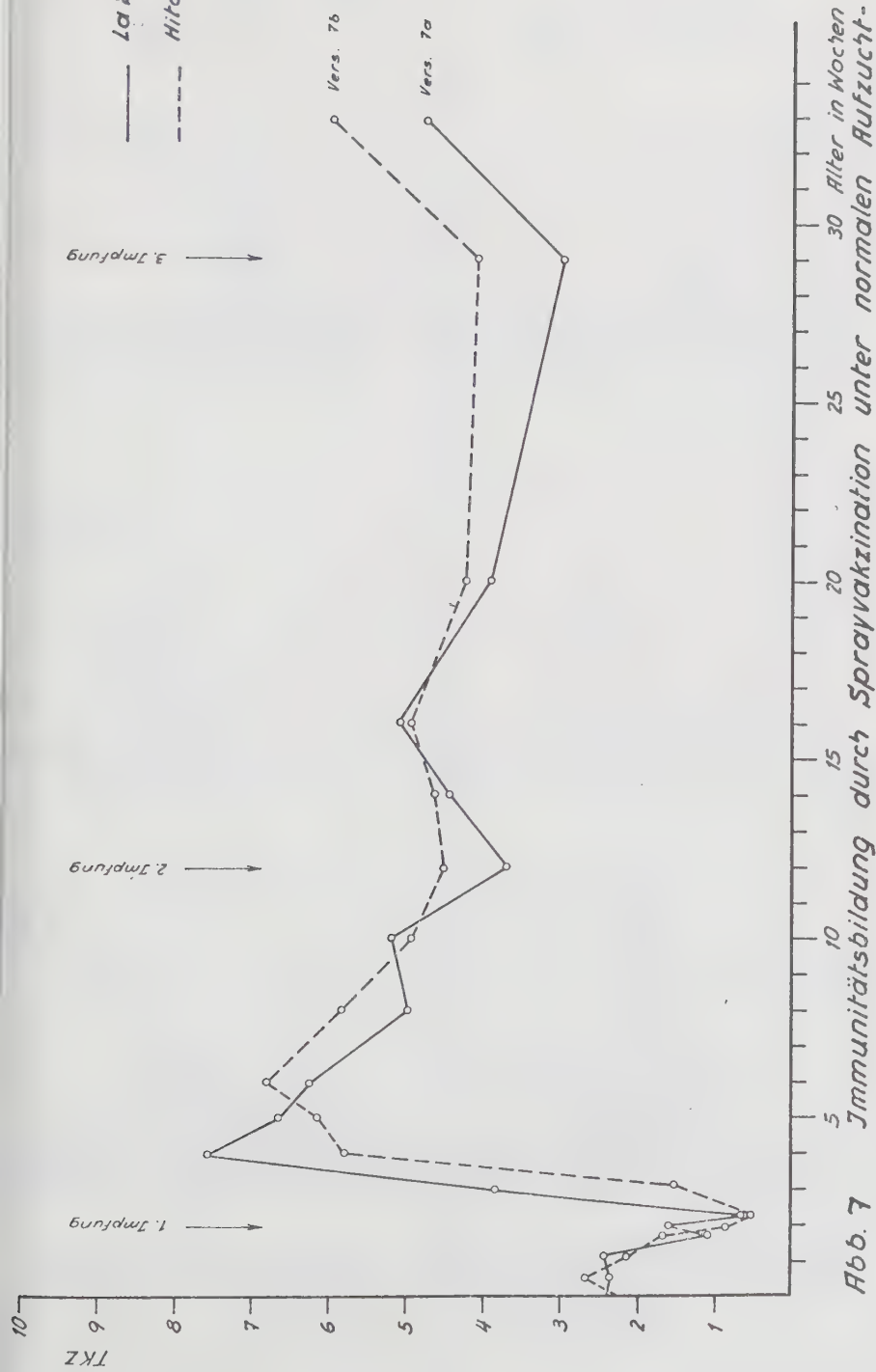


Abb. 7 Immunitätsbildung durch Sprayvakuination unter normalen Aufzuchtbedingungen - Versuch 7 (Arithmetische Mittelwerte der HAH-Titerkennzahlen)

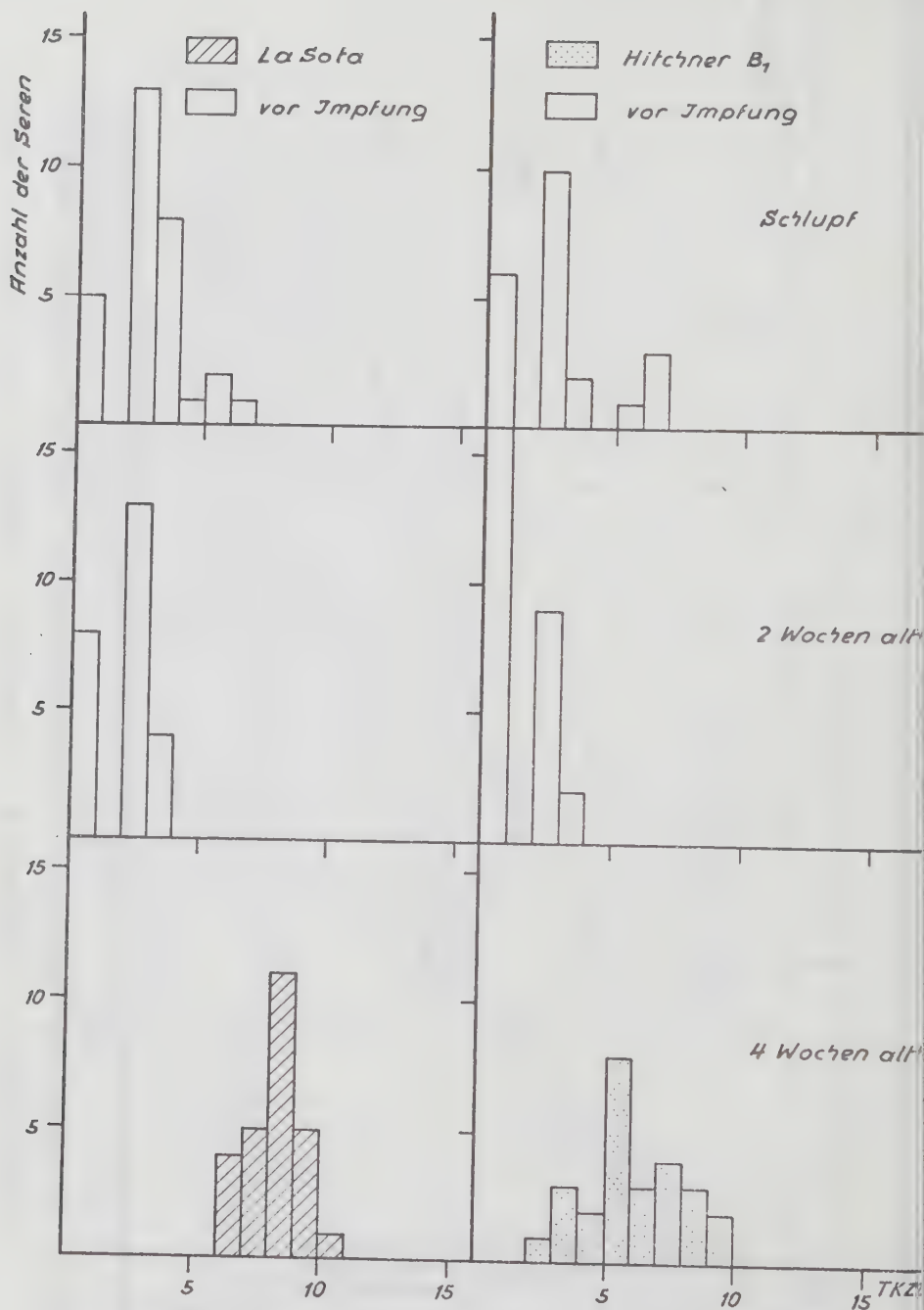


Abb. 8 Verteilung der TKZ im Verlauf des Versuchs 7

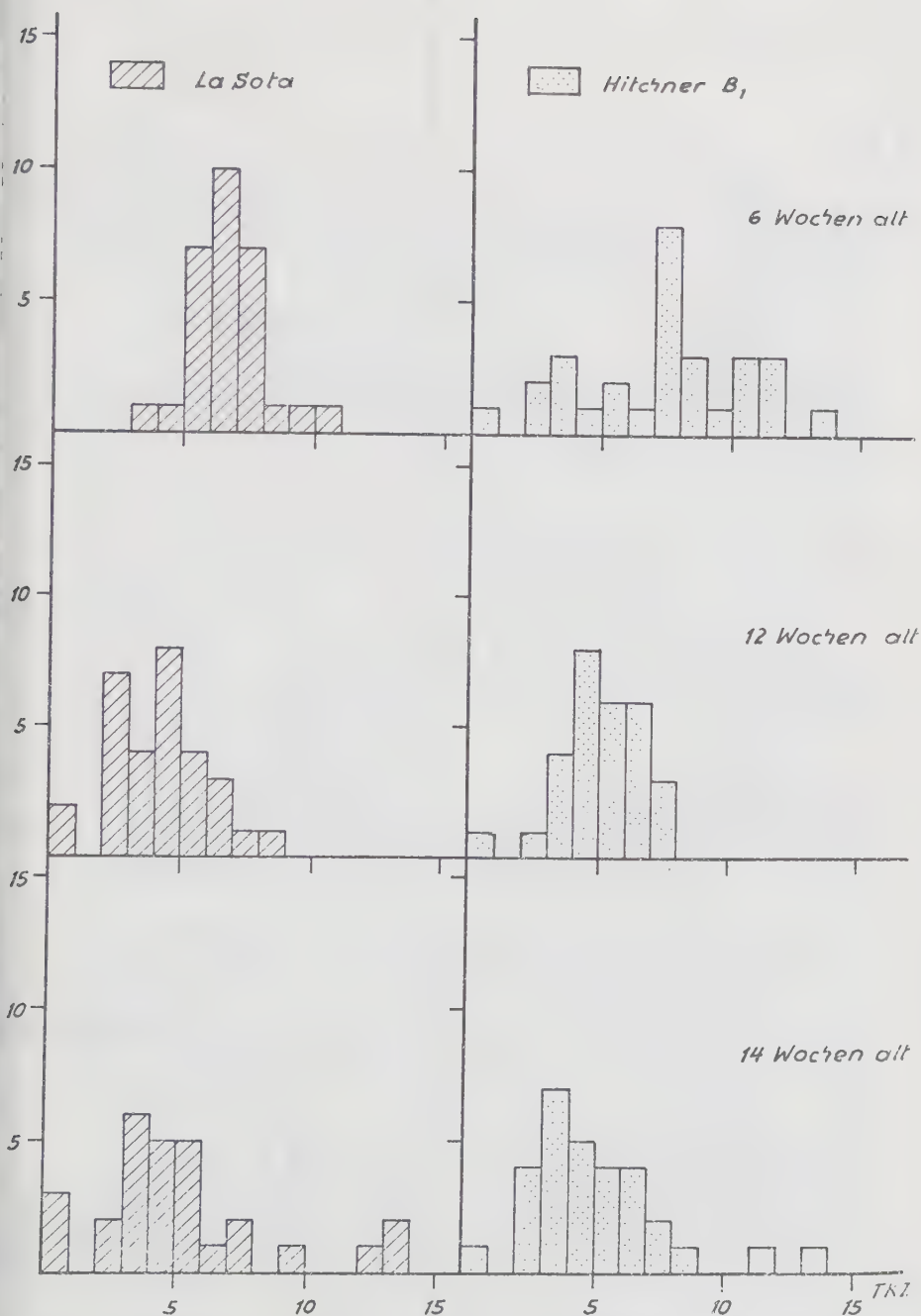


Abb. 9 Verteilung der TKZ im Verlauf des Versuchs 7

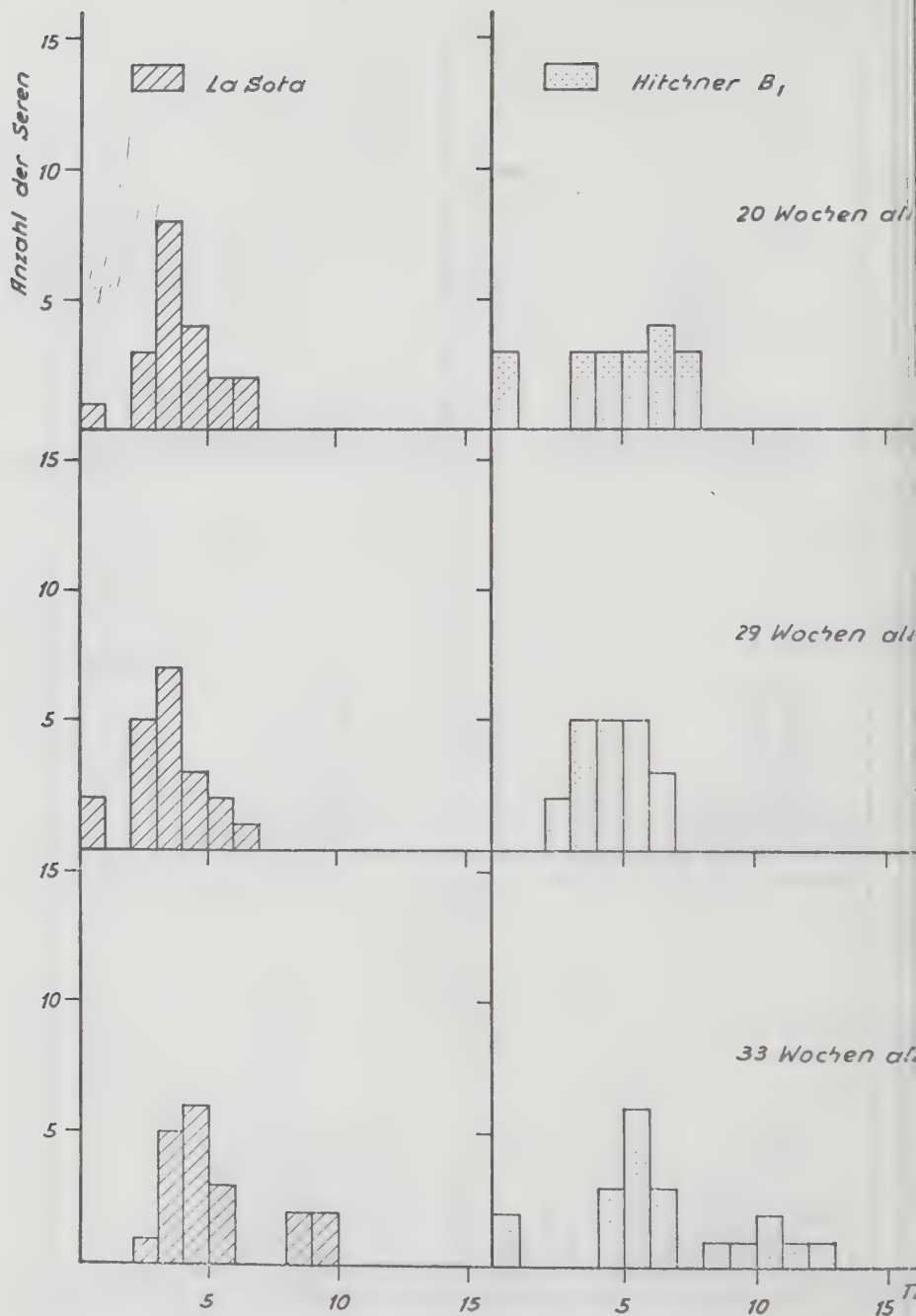


Abb. 10 Verteilung der TKZ im Verlauf des Versuchs 7

Versuch 8

Der Versuch 8 wurde wie der vorangegangene Versuch unter normalen Aufzuchtbedingungen durchgeführt. Die technischen Mängel, die zu starken Anfangsverlusten im Versuch 7 geführt hatten, wurden abgestellt.

Im Gegensatz zum vorigen Versuch wurde die Sprayimpfung nicht mit dem gleichen Impfstamm innerhalb der Versuchsgruppe durchgeführt. Gruppe a) wurde bei der 1. Impfung mit LaSota, bei der 2. Impfung mit Hitchner B₁ gesprüht. Bei Gruppe b) war es umgekehrt.

Die Versuchstiere wurden als Eintagsküken in die gleichen Batterien gebracht wie in Versuch 7, und zwar in drei verschiedenen Räumen. Für beide Versuchsgruppen standen je 198 Tiere (150 Hennen und 48 Hähne) zur Verfügung. Im dritten Raum befanden sich zur Kontrolle 50 Hähne in Käfighaltung. Alle Küken wurden am 1. Lebenstag gegen Marek'sche Krankheit schutzgeimpft.

Vor Versuchsbeginn wurden von 33 Eintagsküken desselben Schlupfes Blutproben durch Herzpunktion gewonnen und im HAH untersucht. (Arithmetisches Mittel der TKZ 4,45)

Die Elterntiere, von denen die Versuchstiere abstammten, waren im Alter von 41 Wochen einer Trinkwasser-Impfung mit Hitchner B₁ (Op.-Nr. 260 E) unterzogen worden. Bei ihnen wurde zur Zeit der Ablage der entsprechenden Brut-eier, 1 Monat nach dieser Impfung, eine durchschnittliche Titerkennzahl von 6,22 ermittelt (50 Blutproben).

Verbesserte klimatische Bedingungen wurden durch Beheizung des gesamten Raumes mit 4 Strahlern und Abdichtung der Wasserleitung geschaffen. Die Küken wurden in diesem Ver-

such in die mittlere Etage der Batterie eingesetzt (je 33/ Käfig). Im Alter von 14 Tagen bei der ersten Impfung wurden in jedem Käfig 5 Hennen und 2 Hähne mit Flügelmarken gekennzeichnet. Bei 25 Tieren jeder Versuchsgruppe wurden die Titer über den ganzen Versuchszeitraum verfolgt (Tab. 10 und 11).

Im Alter von 6 Wochen wurden die Tiere auf alle 18 Käfige der Batterie gleichmäßig verteilt.

Die 2. Sprayvakzination wurde im Alter von 11 Wochen durchgeführt.

Die Verluste in der gesamten Versuchszeit betrugen in der Gruppe 8a 10 Tiere (5 davon durch Einklemmen im Käfig) und in der Gruppe 8b 3 Tiere.

Angaben zur Technik der Sprayvakzination:

	Versuch 8a	Versuch 8b
	Stamm LaSota	Stamm Hitcher B ₁
	Op.-Nr. 508 A	Op.-Nr. 259 B
14 Tage: Regulierungsknopf in		
Stellung	3,5	3,5
Sprühzeit:	36 sec.	36 sec.
Ausbringmenge:	133 ml	132 ml
Konzentration:	500 Ds. in 333,3 ml Wasser gelöst	
Dosis:	$10^{7.46} \text{EID}_{50} / \text{Tier}$	$10^{8.16} \text{EID}_{50} / \text{Tier}$
11 Wo.: Stamm Hitchner B ₁		Stamm LaSota
Op.-Nr. 259 B		Op.-Nr. 508 A
Regulierungsknopf in		
Stellung	3	3,25
Sprühzeit:	18 x 12 sec.	18 x 12 sec.
	(18 Käfige à 11 Tiere)	(18 Käfige à 11 T.)
Ausbringmenge:	750 ml	786 ml
Konzentration:	500 Ds. in 1000 ml Wasser gelöst	
Dosis:	$10^{8.44} \text{EID}_{50} / \text{Tier}$	$10^{7.76} \text{EID}_{50} / \text{Tier}$

Die markierten Tiere beider Versuchsgruppen wurden am Ende des Versuchs im Alter von 21 Wochen einer Belastungsinfektion ausgesetzt. Die Versuchstiere überstanden die Infektion ohne klinische Erscheinungen. SPF-Kontrolltiere verendeten am 5. Tag p.i.

Von den 50 Kontrolltieren, die in einem benachbarten Raum unter gleichen Bedingungen gehalten wurden, sind zur gleichen Zeit wie bei den Versuchstieren von jeweils 10 Tieren Titerbestimmungen durchgeführt worden. Dabei fällt ein deutlicher Titeranstieg nach der 2. Impfung der Versuchstiere mit Stamm LaSota auf, obwohl die Kontrollen selbst keiner Impfung unterzogen wurden. Da bei jeder Sprayvaccination der Lüfter im Versuchsstall abgestellt wurde, der Lüfter im Kontrollraum aber weiter lief, ist es möglich, daß der Impfnebel durch undichte Stellen in der Tür in den Kontrollraum gelangen konnte.

Den Titerverlauf bei den geprüften Kontrolltieren zeigt die folgende Aufstellung

2	4	6	8	10	11	13	15	17	19	21	Alter in Wo.
1,3	1,2	1,0	0,9	0	0,4	4,5	3,0	4,1	3,2	3,6	Arithmet. Mittel der TKZ

Nach der 21. Woche sind 6 dieser Tiere zusammen mit den Versuchstieren testinfiziert worden. 3 davon überlebten die Infektion ohne klinische Erscheinungen, 3 verendeten am 5. Tag p.i.

Die Tabellen 10 und 11 geben einen Überblick über die ermittelten TKZ der markierten Versuchstiere im Verlauf des gesamten Versuchs. Bei den Eintagsküken war eine durch-

schnittliche Titerkennzahl von 4,45 ermittelt worden. Die maternalen Antikörper sind bis zum Alter von 2 Wochen auf 1,68 (8a) und 0,7 (8b) abgefallen. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Tiere der ersten Spray-Impfung unterworfen. Der Titeranstieg ist in beiden Versuchsgruppen bei Tieren mit niedrigen Ausgangswerten größer, als bei Tieren, die noch verhältnismäßig viele maternale Antikörper besitzen. Auffallend ist, daß 2 Wochen nach der Impfung in der LaSota-Gruppe (8a) alle Küken einen verhältnismäßig hohen Titer haben (mit guter Verteilung der TKZ), daß es dagegen in der Hitchner B₁-Gruppe (8b) 14 von 25 Tieren gibt, die negativ geblieben sind. 6 Tiere dieser Gruppe hatten bis zur 2. Impfung im Alter von 11 Wochen keinen Impfschutz! In der LaSota-Gruppe fielen nur 2 Tiere bis zur 11. Woche auf die TKZ 0 ab.

Die Revakzination erfolgte bei der LaSota-Gruppe mit Hitchner B₁ mit recht unterschiedlichem Ergebnis. Einzelne Tiere boostern stark auf, andere blieben im wesentlichen auf gleicher Titerhöhe. Ein Tier blieb nach der Revakzination bis zur 21. Woche ohne Titer (Tier Nr. 9). Die Abb. 12 zeigt nochmals die recht breite Streuung der Titerwerte nach der Zweitimpfung.

In der Versuchsgruppe 8b, in der die mit Hitchner B₁ geimpften Tiere mit Stamm LaSota revakziniert wurden, trat ein starker Titeranstieg auf. Auch in dieser Gruppe blieb ein Tier negativ. Die Verteilung der TKZ innerhalb der Gruppe war recht breit.

Im Alter von 21 Wochen wurden alle Tiere der Testinfektion unterzogen. Die Verteilung der Titer näherte sich in beiden Gruppen zu diesem Zeitpunkt schon mehr der Normalkurve. Alle Versuchstiere erwiesen sich als voll immun gegenüber

der Belastungsinfektion, auch diejenigen, die vor der Infektion keine nachweisbaren hämagglutinierenden Antikörper hatten. Der Titeranstieg in der Gruppe 8a war am größten (von 3,44 auf 13,8). In der mit LaSota revakzinierten Gruppe stieg der Mittelwert der TKZ von 5,87 auf 11,2.

Die Abb. 11 gibt den Titerverlauf in beiden Versuchsgruppen wieder. Es fällt der steile Titeranstieg bei der 1. Impfung mit LaSota auf, der seinen Höhepunkt bereits 2 Wochen nach der Impfung erreicht. Bei der Erstimpfung mit Hitchner B₁ ist der Anstieg geringer, und der höchste Wert wird erst 4 Wochen nach der Impfung erreicht.

Der Boostereffekt bei der Revakzination ist bei der Gruppe 8b (LaSota nach Hitchner) unverhältnismäßig viel stärker als bei der Gruppe 8a (Hitchner nach LaSota). Auch hier wird bei der Impfung mit Hitchner B₁ der Gipfelpunkt der Kurve erst 4 Wochen nach der Impfung erreicht, bei Impfung mit LaSota bereits nach 2 Wochen.

Im Versuch 8 zeigte sich, daß der Stamm LaSota sowohl bei der ersten als auch bei der zweiten Impfung einen höheren Titeranstieg in kürzerer Zeit hervorrief und daß die Titer innerhalb der Gruppe besser verteilt waren. Der Stamm Hitchner B₁ erwies sich als weniger gut immunisierend, zumindest im Hinblick auf die Ausbildung humoraler Antikörper.

Bei der Testinfektion ergaben sich keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Lediglich der Titer stieg in der Gruppe 8a auf höhere Werte an.

Tabelle 10

Tier Nr.	Alter in Wochen											Testinfektion
	2	4	6	8	10	11	13	15	17	19	21	23
1	0	6	3	2	2	0	10	9	6	6	6	8
2	0	8	2	3	0	4	11	11	9	7	7	10
3	2	7	7	5	5	2	0	2	0	0	0	15
4	2	6	7	4	4	4	12	12	9	8	8	12
5	2	7	7	3	4	2	0	11	0	4	0	12
6	4	3	4	3	3	4	11	9	8	4	6	11
7	0	8	6	6	2	4	4	4	4	6	5	13
8	2	8	6	4	3	3	4	3	3	4	3	17
9	3	6	4	2	0	0	0	0	0	0	0	12
♀ ♀ 10	3	5	7	4	4	5	4	3	3	3	2	12
11	0	8	6	4	6	3	4	5	3	3	3	17
12	2	7	7	5	6	4	4	4	3	4	3	13
13	0	9	7	7	8	6	6	8	5	5	5	10
14	2	7	4	3	2	2	0	3	0	0	0	15
15	2	2	0	0	2	2	8	10	8	7	6	7
16	2	6	5	3	3	2	3	4	2	0	8	12
17	0	5	7	4	4	4	3	5	3	4	4	12
18	4	6	5	5	4	4	3	4	3	3	3	15
19	2	7	5	6	6	3	4	4	3	2	2	17
20	2	7	6	5	5	3	4	3	3	4	3	11
21	2	7	6	6	3	3	5	0	0	3	3	14
22	2	8	5	5	2	4	4	2	2	3	3	17
♂ ♂ 23	0	9	7	6	5	5	6	4	4	4	4	17
24	4	6	6	5	5	4	5	5	5	6	5	11
25	0	7	6	6	4	4	5	5	4	6	3	17
	1,68	6,68	5,4	4,24	3,8	3,24	4,8	5,6	3,6	3,84	3,44	13,08
	Arithmet. Mittel d. TKZ											

Versuch 8a: Sprayvakzination konventioneller Aufzuchtküken

1. Impfung: Stamm LaSota

2. Impfung: Stamm Hitchner B₁

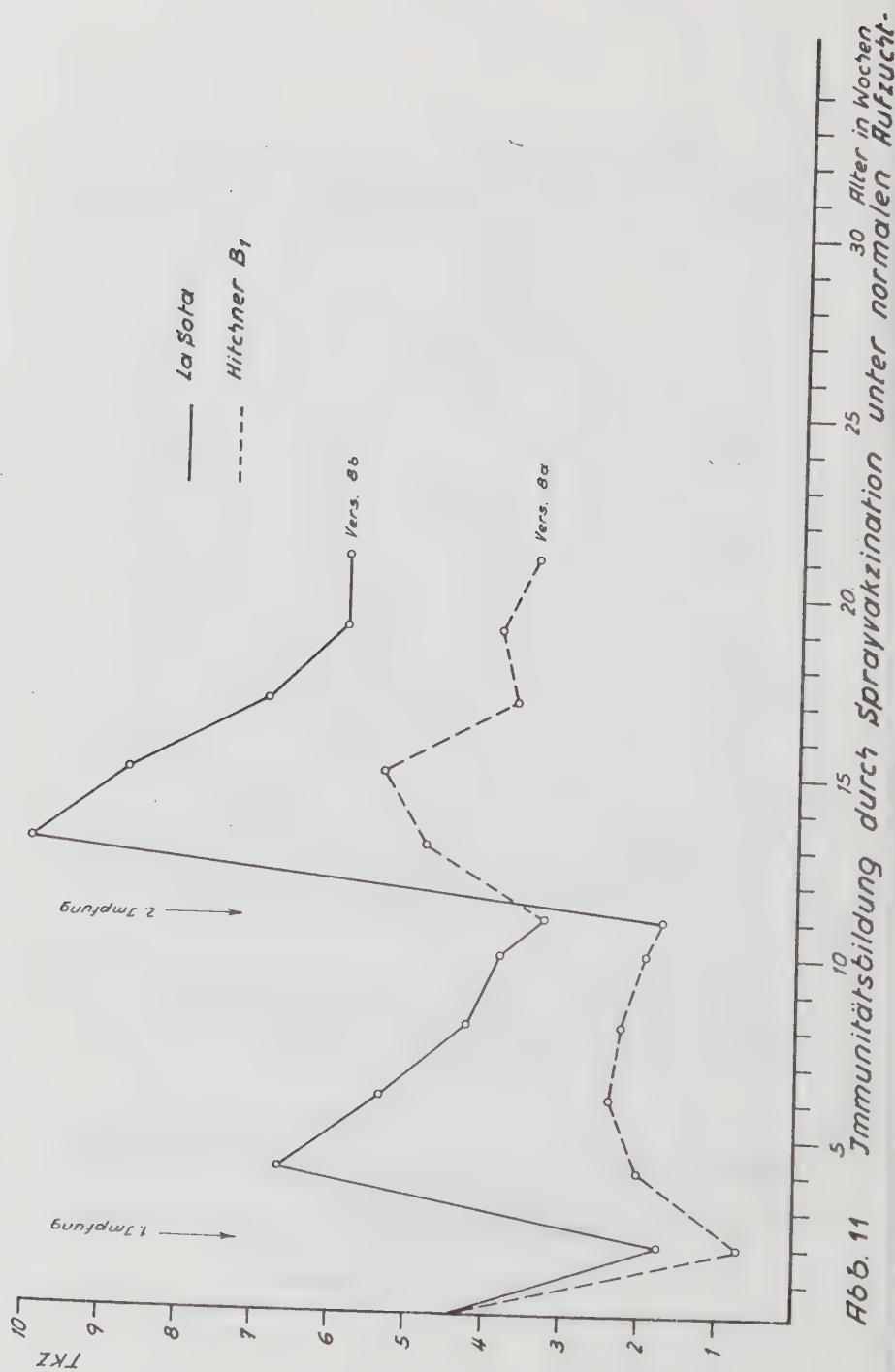
Tabelle 11 /

Tier Nr.	Alter in Wochen						LS		Testinfektion			
	2	4	6	8	10	11	13	15	17	19	21	23
1	0	3	4	7	5	4	4	7	3	3	3	11
2	2	4	4	3	0	0	8	7	5	0	2	11
3	0	0	0	0	4	3	12	11	11	7	7	9
4	2	9	6	2	4	4	14	11	9	8	8	10
5	0	7	6	4	2	3	17	13	12	12	10	16
6	0	4	4	3	4	4	5	6	6	5	4	11
7	0	0	3	3	3	2	11	10	8	7	8	12
8	2	0	0	0	2	0	12	9	6	7	7	12
9	0	0	0	0	0	0	12	8	5	6	5	10
♀ 10	0	2	7	5	4	4	11	11	9	9	9	13
11	2	8	5	5	3	0	0	4	0	0	0	13
12	3	0	0	0	0	0	9	9	6	7	6	12
13	0	0	0	2	0	4	7	8	8	5	6	11
14	0	0	0	0	0	0	7	7	7	8	7	13
15	2	6	5	5	3	0	11	8	5	4	4	13
16	0	0	0	0	0	0	7	5	3	0	0	7
17	2	0	0	0	4	0	10	8	8	7	6	11
18	0	0	0	4	0	3	10	7	7	6	6	12
19	0	0	4	2	0	0	10	11	11	8	11	12
20	0	0	0	0	0	0	12	7	7	6	6	10
21	2	0	5	4	3	5	17	11	9	9	9	10
♂ 22	0	2	3	3	2	3	13	11	8	8	7	9
23	0	0	0	0	0	0	10	9	5	5	6	13
24	0	4	3	2	4	2	10	11	6	4	4	8
0,7 2,04 2,45 2,25 1,95 1,7 9,95 8,7 6,87 5,87 5,87 11,2 Arithmet. Mittel d. TKZ												

Versuch 8b: Sprayvaktination konventioneller Aufzuchtküken

1. Impfung: Stamm Hitchner B₁

2. Impfung: Stamm LaSota



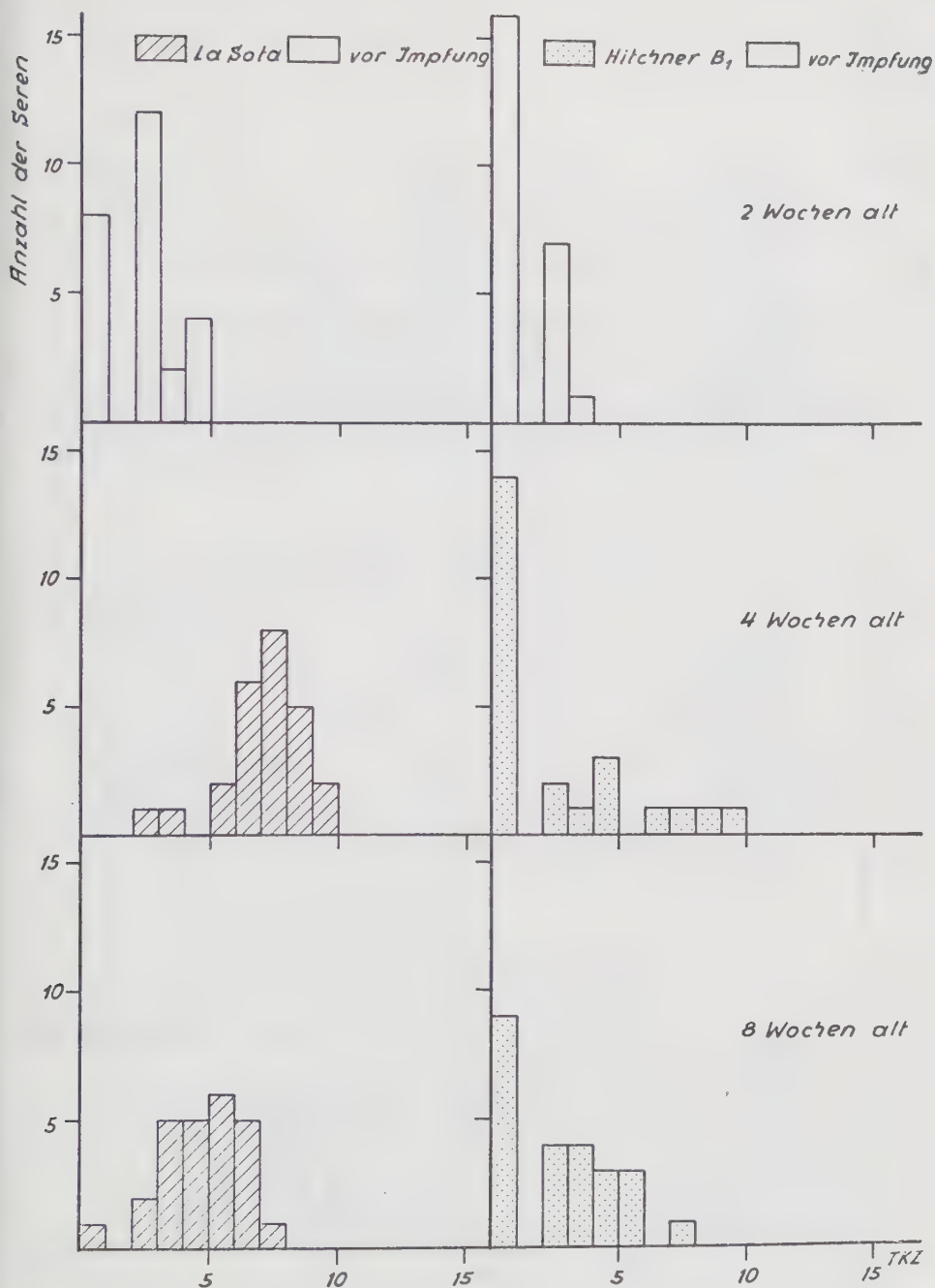


Abb. 12 Verteilung der TKZ im Verlauf des Versuchs 8

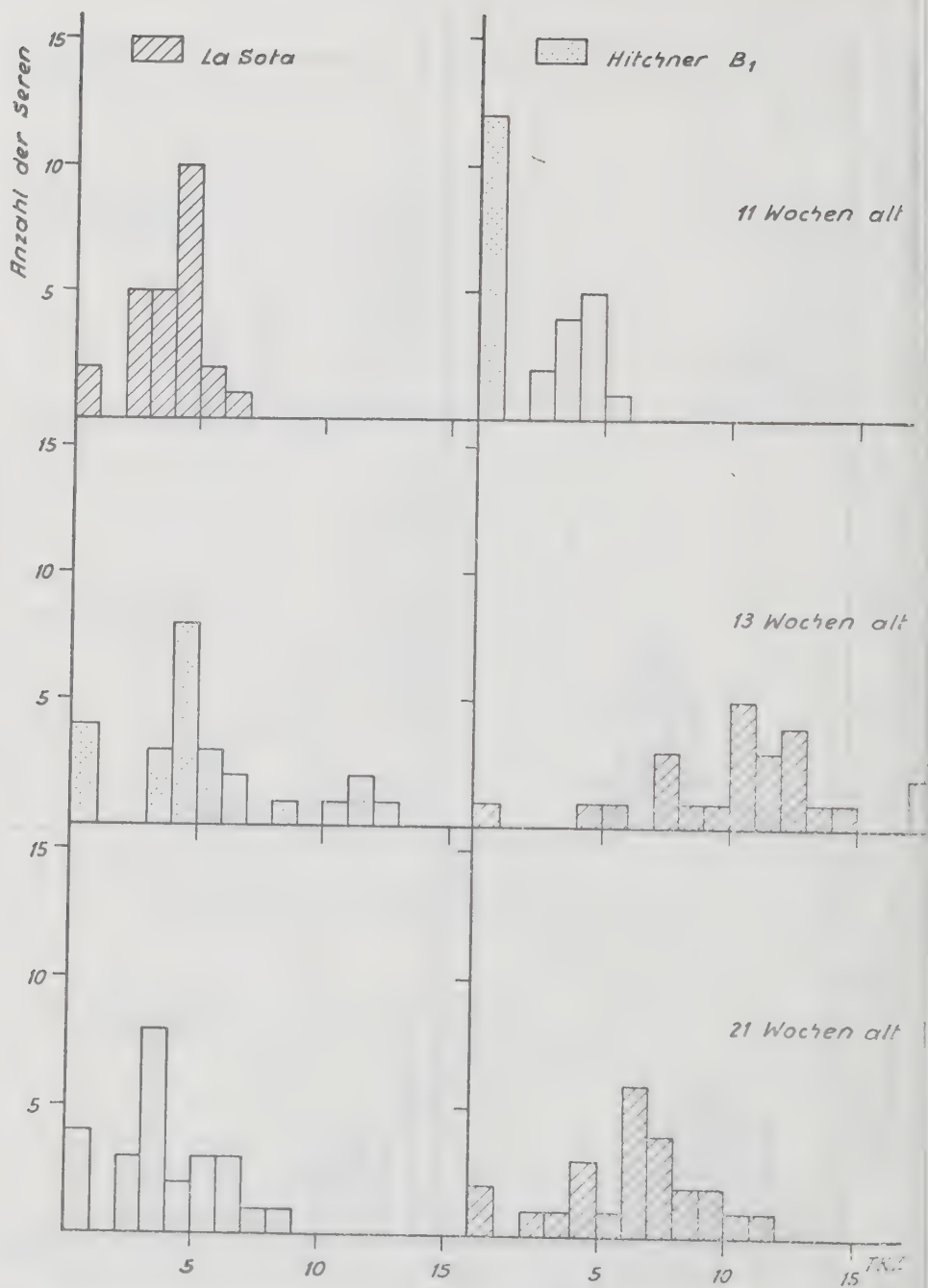


Abb. 13 Verteilung der TKZ im Verlauf des Versuchs 8

Versuch 9

In diesem Versuch sollte die Möglichkeit der horizontalen Ausbreitung der Impfinfektion geprüft werden.

Zu diesem Zweck wurden zu den Versuchsgruppen 7a und 7b je 21 SPF-Küken in möglichst gleichmäßiger Verteilung in der Batterie dazugesetzt. Außerdem wurden 8 Tiere als Kontrollen in den dafür bestimmten 3. Raum verbracht. Die SPF-Küken wurden 48 Stunden nach der 1. Sprayvakzination (14 Tage) eingesetzt und waren zu diesem Zeitpunkt 4 Wochen alt.

Die Tiere verblieben 12 Tage im Versuch. Danach wurden alle 50 Tiere der Testinfektion unterworfen.

Vor dem Einsetzen in die Versuchsgruppen, sowie bei der Entnahme zum Challenge wurden Blutproben zur Titerbestimmung entnommen. Bei den 4 Tieren, die die Testinfektion überlebten, wurde außerdem 14 Tage nach dem Challenge nochmals der Titer bestimmt.

Sämtliche SPF-Küken hatten beim Einsetzen keinen Titer. Nach 12 Tagen wiesen 3 Tiere aus der Gruppe 7a (LaSota) positive Titer auf, und zwar:

Tier Nr. 212	TKZ 3	nach dem Challenge	TKZ 9
Tier Nr. 213	TKZ 4	nach dem Challenge	TKZ 10
Tier Nr. 214	TKZ 4	nach dem Challenge	TKZ 10

Nur diese Tiere überlebten die Testinfektion, alle anderen verendeten am 5. und 6. Tag p.i.

Aus der Gruppe 7b (Hitchner B₁) hatte nur 1 Tier einen positiven Titer und überlebte die Testinfektion:

Tier Nr. 227 TKZ 2 nach dem Challenge TKZ 11

Alle anderen waren negativ und verendeten am 5. und 6. Tag.

Der Versuch zeigt, daß die Möglichkeit der Übertragung der Impfinfektion von geimpften Tieren auf ungeimpfte besteht. Allerdings wurden nur wenige Tiere auf diese Weise immunisiert. Der Stamm LaSota scheint auch hier wieder dem Stamm Hitchner B₁ überlegen zu sein.

Die Kontaktzeit von nur 12 Tagen erschien ein wenig zu kurz, um die horizontale Ausbreitungsmöglichkeit der Impfinfektion optimal klären zu können. Deshalb wurde im Versuch 10 nochmals eine ähnliche Untersuchung durchgeführt.

Versuch 10

Ähnlich wie im Versuch 9 wurden zur Beobachtung über einen längeren Zeitraum je 25 SPF-Küken den Versuchsgruppen 8a und 8b zugesetzt. Die Tiere waren in diesem Versuch 6 Wochen alt und wurden 48 Stunden nach der 2. Sprayvaccination (11 Wo.) gleichmäßig in der Batterie verteilt.

Die Küken waren mit Flügelmarken gekennzeichnet und die Titer wurden laufend kontrolliert.

Nach 10 Wochen wurden die SPF-Tiere der Testinfektion unterworfen. Dabei überlebten 3 Tiere aus der mit LaSota geimpften Gruppe und 1 Tier aus der Gruppe, die mit Stamm Hitchner B₁ vakziniert wurde.

Die Ergebnisse sind den Tabellen 12 und 13 und der Abbildung 14 zu entnehmen.

Dieser Versuch hat im wesentlichen das gleiche Ergebnis, wie der Versuch 9, obwohl die SPF-Tiere eine erheblich längere Zeit Kontakt mit den geimpften Tieren hatten. Die Tabellen 12 und 13 zeigen, daß außer den 4 überlebenden Tieren auch andere Impfvirus aufgenommen haben müssen und humorale Antikörper ausbildeten. In beiden Gruppen ist eine gleiche Anzahl: Tiere über den ganzen Versuchszeitraum ohne Titer geblieben (LaSota 8 von 22 auswertbaren Tieren, Hitchner 10 von 25). Bei den übrigen Tieren, die Impfvirus aufgenommen haben müssen, erzeugte der Stamm LaSota wiederum höhere Titer und bei 3 Tieren eine belastbare Immunität, während das Impfvirus Hitchner B₁ in beiden weniger gute Ergebnisse brachte. Die Ausbildung lokal wirksamer Antikörper spielt dabei sicher auch eine Rolle. Dafür spricht, daß Tiere mit gleicher Titerhöhe in der Testinfektion eine unterschiedliche Belastbarkeit

zeigten. Auffallend ist außerdem, daß bei den überlebenden Tieren die Titer über längere Zeit bestanden hatten.

Tabelle 12

Tier Nr.	Wochen nach dem Einsetzen						Testinfektion
	0	2	4	6	8	10	12
1	0	2	0	0	0	0	*+
2	0	3	0	0	0	0	+
3	0	0	0	0	0	0	+
4	0	2	0	0	2	0	+
5	0	0	0	0	0	0	+
6	0	2	0	0	2	2	+
7	0	2	0	0	0	0	+
8	0	2	0	0	2	0	+
9	0	0	0	erdrückt			
10	0	3	0	0	2	2	13
11	0	0	0	0	0	0	+
12	0	0	0	0	0	0	+
13	0	0	0	0	0	0	+
14	0	erdrückt					
15	0	0	0	0	2	2	+
16	0	4	3	3	3	2	11
17	0	0	0	0	0	0	+
18	0	0	0	0	0	0	+
19	0	2	0	2	0	0	+
20	0	2	0	0	0	0	+
21	Eigenhemmung						
22	0	2	5	5	4	3	13
23	0	2	0	0	0	0	+
24	0	2	0	0	0	0	+
25	0	0	0	0	0	0	+

* + = Nach Testinfektion verendet

Versuch 10:

SPF-Tiere eingesetzt nach Impfung mit Stamm LaSota

Tabelle 13

Tier Nr.	Wochen nach dem Einsetzen						
	0	2	4	6	8	10	12
1	0	2	0	0	0	0	+ *
2	0	0	0	0	0	0	+
3	0	0	0	0	0	2	+
4	0	0	0	0	0	0	+
5	0	0	0	0	0	0	+
6	0	0	0	0	0	0	+
7	0	0	0	0	0	2	+
8	0	0	0	0	0	0	+
9	0	0	0	0	2	2	+
10	0	0	0	0	2	2	+
11	0	2	2	2	3	2	13
12	0	0	0	2	3	0	+
13	0	0	0	0	2	0	+
14	0	0	0	0	0	0	+
15	0	0	0	0	0	0	+
16	0	0	0	0	0	0	+
17	0	2	0	0	2	0	+
18	0	3	0	0	0	erdrückt	
19	0	0	0	0	0	2	+
20	0	-	0	0	0	0	+
21	0	2	0	0	0	0	+
22	0	2	0	0	0	0	+
23	0	0	0	0	0	0	+
24	0	0	0	0	2	2	+
25	0	0	0	0	2	0	+

* + = Nach Testinfektion verendet

Versuch 10:

SPF-Tiere eingesetzt nach Impfung mit Stamm Hitchner B₁

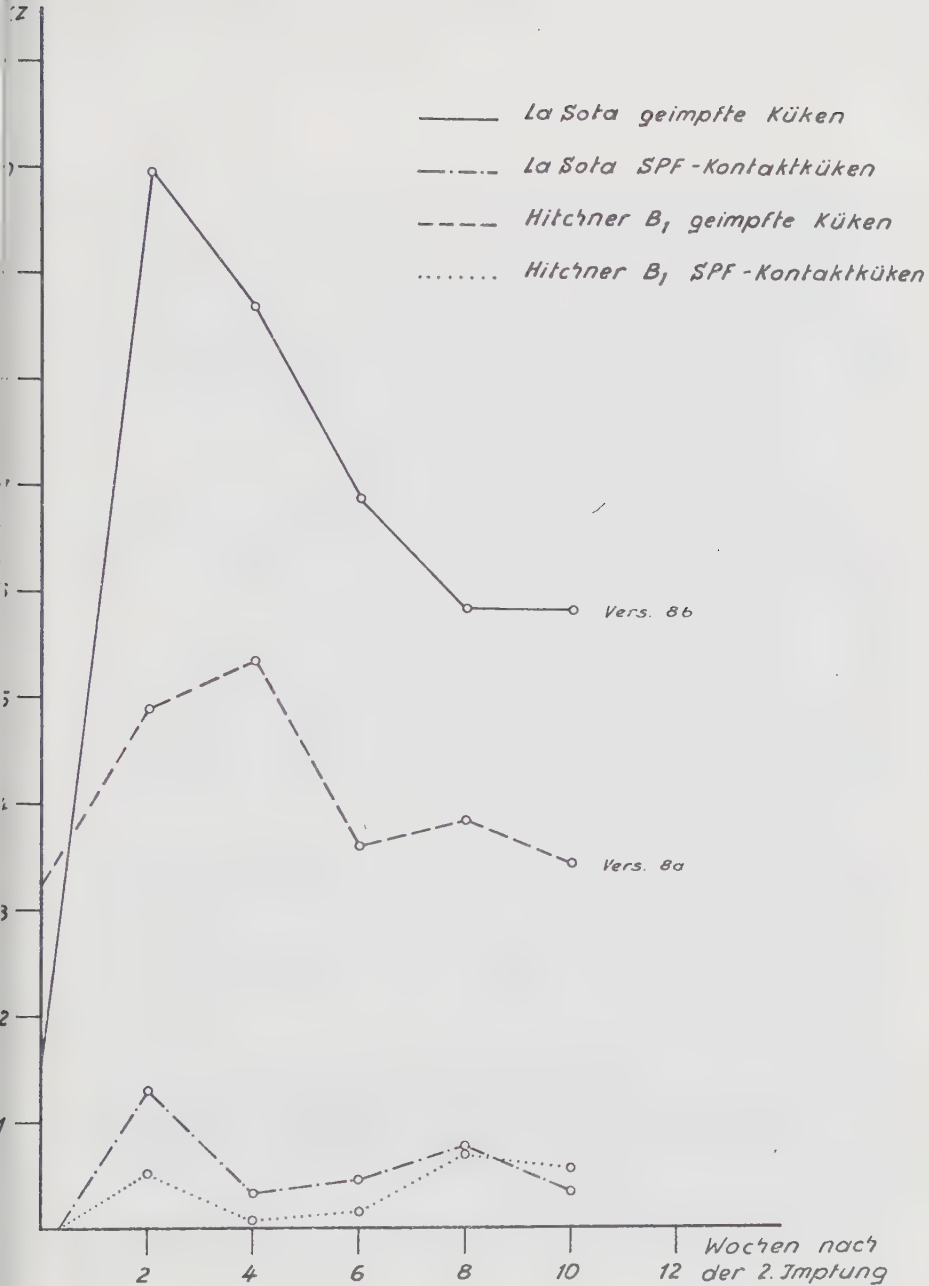


Abb. 14

Horizontale Ausbreitung der Impf-
infektion nach Sprayvakzination
Vers. 9 u. 10 (Arithmetische Mittelwerte der TKZ)

5. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

In den Versuchen 1 und 2 wurde die Wirkung von Impfnebeln mit verschiedener Teilchengröße auf 14 Tage alte SPF-Küken untersucht. Das verwendete Sprühgerät arbeitet in einem Bereich zwischen 5 und 60 μ . Aus diesem Arbeitsbereich wurde die Feineinstellung 2,25 und die Grobeinstellung 9,5 für die Versuche 1 und 2 gewählt.

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß innerhalb dieses Bereiches keine Unterschiede in der Wirkung des Impfnebels auftraten. Die erzeugte Immunität war in beiden Versuchen gut. Die histologische Untersuchung der 14 Tage p.vacc. entnommenen Atmungsorgane ergab, daß in allen 4 Versuchsgruppen entzündliche Veränderungen als Ausdruck einer Impfreaktion nur in den Schleimhäuten der Tracheen und Bronchien vorlagen. Daraus wurde geschlossen, daß ein tiefes Eindringen des Impfnebels bei beiden Einstellungen des Geräts vermieden werden konnte.

Da von beiden Versuchen gleiche Ergebnisse vorlagen, wurde für die Sprayvakzinationen in den weiteren Versuchen das Gerät mit einer Einstellung von 3,5 benutzt und damit ein Impfnebel erzeugt, dessen Tröpfchengröße zwischen denen der beiden Vorversuche lag.

In den Versuchen 3 - 6 sollte untersucht werden, ob die Immunantwort nach Sprayvakzination abhängig vom Alter der Tiere ist. Zu diesen Versuchen wurden SPF-Küken verwendet, bei denen der Einfluß bereits vorhandener Antikörper ausgeschlossen werden konnte.

Die Untersuchungen ergaben, daß Küken, die bei der Erstimpfung 2 Tage, 16 Tage oder 30 Tage alt waren, ohne Unterschied eine gute Immunität ausbildeten, die 14 Tage p.vacc. voll belastbar war. Die Impfung wurde von allen Tieren gut vertragen. Regelmäßig trat eine 2 - 5 Tage andauernde Impfreaktion seitens der Atemorgane auf.

SPF-Küken, die bei der ersten Spray-Impfung 42 Tage alt waren, konnten nur unbefriedigend immunisiert werden. Dieser Versuch wurde wegen des abweichenden Ergebnisses zweimal durchgeführt. Bei der Wiederholung wurde die Impfstofflösung etwas stärker verdünnt, um eine längere Sprühzeit ohne Veränderung der Impfdosis wählen zu können.

Die mit Stamm LaSota geimpften Tiere hatten in beiden Versuchen den besseren Impferfolg. Die arithmetischen Mittelwerte der TKZ waren höher, der Titeranstieg nach der Testinfektion geringer. Nach der Infektion überlebte ein geimpftes Tier nicht.

Bei der Impfung mit Stamm Hitchner B₁ war in beiden Versuchen das Ergebnis schlecht. Bei der ersten Durchführung des Versuchs 6 blieb die sonst regelmäßig zu beobachtende Impfreaktion aus und der Titeranstieg war nur gering. Entsprechend der schlechten Immunität überlebten 6 Tiere die Testinfektion nicht. Nach der belastenden Infektion stieg der Mittelwert der TKZ stark an. Bei der Wiederholung dieses Versuchs war der Titer etwas höher, das Ergebnis nach der Testinfektion aber nahezu das gleiche. 7 Impflinge überlebten die Infektion nicht, die übrigen zeigten einen starken Boostereffekt.

Als Ursache für den ungenügenden Erfolg der Spray-Impfung bei bereits 42 Tage alten Küken wird angenommen, daß die Tiere das Impfvirus nicht in ausreichender Menge aufge-

nommen haben. Dafür spricht die breite Streuung der Titerwerte innerhalb der Versuchsgruppen und die Tatsache, daß auffallend viele Tiere Titer unter TKZ 5 aufwiesen. Es ist möglich, daß die Küken, die bereits wesentlich größer waren, als die Versuchstiere der Versuche 3 - 5, sich gegenseitig gegen den Sprühstrahl abschirmten, so daß einzelne Tiere nicht genügend Impfvirus erhielten. Es müßte in weiteren Untersuchungen geklärt werden, ob bei geringerer Besatzdichte Impflinge dieser Altersgruppe bessere Impfergebnisse zeigen. Auf jeden Fall wird an diesen Ergebnissen deutlich, daß die Anwendung der Sprayvakzination bei älteren Tieren bestimmte technische Probleme mit sich bringen kann.

In den Versuchen 7 und 8 wurde die Sprayvakzination bei konventionellen Küken während der Aufzucht unter Feldbedingungen eingesetzt.

In den ersten Lebenstagen traten wegen technischer Mängel der Anlage erhöhte Verluste bei den Versuchstieren des Versuchs 7 auf. Nach der 1. Impfung im Alter von 14 Tagen verursachte der teilweise Ausfall der Heizung erneut Verluste. Trotz des zeitweise ungünstigen Stallklimas bildeten beide Versuchsgruppen innerhalb von 14 Tagen eine gute Immunität aus.

Bei der 2. Impfung im Alter von 12 Wochen und der 3. Impfung im Alter von 29 Wochen trat jeweils ein leichter Titeranstieg auf, so daß die Tiere während der Beobachtungszeit von insgesamt 33 Wochen in einer gleichmäßigen Immunitätslage gehalten werden konnten.

Gegenüber den Belastungsinfektionen, die während dieser Zeit fünfmal durchgeführt wurden, erwiesen sich die Tiere

beider Versuchsgruppen 14 Tage nach der 1. Impfung und in der gesamten Folgezeit als voll immun. Bei zwei Testinfektionen vor der ersten Impfung zeigte es sich, daß die maternalen Antikörper die Tiere nicht gegen eine Infektion zu schützen vermochten. Dieses Ergebnis steht in gewissem Gegensatz zu den Untersuchungen von LANDGRAF und VIELITZ (31), die eine Schutzwirkung der maternalen Antikörper bei ihren Versuchstieren feststellen konnten. Allerdings lag bei diesen Tieren die durchschnittliche TKZ bei 6, wesentlich höher als in den vorliegenden Versuchen (TKZ ca. 2).

Im Versuch 8 wurden konventionelle Küken im Alter von 14 Tagen erstmalig sprayvakziniert und in der 11. Woche jeweils mit dem anderen Stamm revakziniert. Alle Versuchstiere widerstanden der Testinfektion in der 21. Woche.

Die Gruppe, die bei der ersten Impfung mit Stamm LaSota vakziniert wurde, zeigte einen besseren Impferfolg. Es wurden in 14 Tagen hohe Titer mit guter Verteilung innerhalb der Gruppe ausgebildet. Kein Tier blieb ohne hämagglutinationshemmende Antikörper.

Die Gruppe, die mit Hitchner B₁ geimpft wurde, erreichte den höchsten Titerdurchschnitt erst 4 Wochen p.vacc. 25 % der im HAH untersuchten Tiere bildeten bis zur 2. Impfung in der 11. Lebenswoche keine hämagglutinationshemmenden Antikörper aus.

Diesen Impfergebnissen entsprechend ist der Erfolg der 2. Sprayvakzination in der 11. Lebenswoche. Die mit LaSota erstgeimpften Tiere zeigen danach nur eine geringe Erhöhung des arithmetischen Mittels der TKZ mit breiter Streuung der Titer. Dagegen kommt es bei der Gruppe, die mit

Hitchner B₁ erstgeimpft war, bei der Revakzination mit LaSota zu einem steilen Titeranstieg im Sinne eines Booster-effekts.

Bei der Gruppe ungeimpfter Kontrolltiere, die in einem gesonderten Raum gehalten wurde, zeigte sich ein deutlicher Titeranstieg, nachdem im Nachbarraum die Versuchstiere mit Stamm LaSota sprayvakziniert worden waren. Bei keiner der zuvor in diesem Raum für Versuch 7b und 8b durchgeführten Spray-Impfungen mit Stamm Hitchner B₁ war ein solcher Effekt beobachtet worden. Er wird als Ausdruck für die evtl. höhere Kontagiosität des LaSota-Impfnebels gewertet, der hier bereits eine immunisierende Wirkung zeigte, wenn er nur in kleinen Mengen durch Undichtigkeiten in der Tür zu den Tieren gelangte. 3 von 6 dieser Kontrolltiere überlebten sogar die Testinfektion.

In den Versuchen 9 und 10 wurde festgestellt, daß die Möglichkeit der horizontalen Ausbreitung der Impfinfektion besteht, wenn auch nur bei wenigen Tieren. Es wurden 50 SPF-Küken für 12 Tage und 50 SPF-Küken für 10 Wochen in Kontakt mit den geimpften Tieren der Versuche 7 und 8 gehalten. Unabhängig von der Kontaktzeit erwarben je 3 Tiere in den LaSota-Gruppen und je 1 Tier in den Hitchner B₁-Gruppen eine Immunität, die die Tiere gegen eine belastende Infektion schützte.

Es konnte zwar festgestellt werden, daß mehr als die Hälfte der Kontakt-Tiere Impfvirus aufgenommen und hämagglutinationshemmende Antikörper ausgebildet hatten. Eine verhältnismäßig geringe Anzahl der Tiere konnte allerdings auf diesem Wege eine Immunität entwickeln, die ausreichte, um sie gegen eine Infektion zu schützen.

In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von LANDGRAF und VIELITZ (31) wurde festgestellt, daß bei dem LaSota-Virus eine horizontale Ausbreitung eher zu erwarten ist. Es scheint so zu sein, daß man bei Verwendung des LaSota-Stammes mit einer geringeren Minimaldosis rechnen kann (38). Möglicherweise besitzt dieser Virusstamm eine stärkere Vermehrungstendenz, so daß, wie auch andere Autoren feststellen konnten (31,38,56,57), die immunisierenden Eigenschaften des LaSota-Virus besser sind als die des Stammes Hitchner B₁.

In den Versuchen 1 - 5 wurde ein wesentlicher Unterschied zwischen beiden Impfstämmen nicht gefunden. Das kann daran liegen, daß in diesen Versuchen kleinere Küken auf begrenztem Raum besprüht wurden, so daß die Möglichkeit des Verlustes an Impfvirus geringer war und in dieser Dosierung beide Stämme ähnliche Ergebnisse lieferten.

Im Versuch 6, in dem wegen der Größe der Tiere die Möglichkeit bestand, daß durch gegenseitiges Verdecken einzelne Küken nur wenig Impfvirus aufnahmen, zeigt sich die Überlegenheit des Stammes LaSota deutlich. Ebenso ist es bei den Feldversuchen, bei denen eine größere Tierzahl auf größerem Raum sprayvakziniert wurde. Auch hier kann der Verlust an Impfvirus größer sein, als ursprünglich angenommen wurde. Der LaSota-Stamm lieferte auch hier bessere Ergebnisse.

Sogar wenn die Versuchstiere selbst der Sprayvakzination gar nicht ausgesetzt wurden, wie es in den Versuchen 9 und 10 und im Extremfall bei den unbeabsichtigt im Nachbarraum immunisierten Kontrolltieren des Versuchs 8 der Fall war, ist der Stamm LaSota dem Stamm Hitchner B₁ überlegen.

Die Sprayvakzination wird in der vorliegenden Literatur übereinstimmend als am besten antikörperstimulierend angesehen (3,11,31,47). BEARD und EASTERDAY (3,4,5) wiesen in ihren Arbeiten auf die Bedeutung der lokal wirksamen Antikörper hin, die bei der Impfung über das respiratorische Epithel ausgebildet werden. Da außerdem das respiratorische Epithel der optimale Vermehrungsort für das ND-Virus ist, wird durch die Impfinfektion der respiratorischen Organe eine optimale Antigenvermehrung herbeigeführt. Dies führt in jedem Falle auch zu einer guten humoralen Antikörperbildung. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigen in Übereinstimmung mit den Angaben aus der Literatur, daß mit der Sprayvakzination ein guter Impfschutz gegen die atypische Geflügelpest erzeugt werden kann. Die Ergebnisse zeigen aber auch, wie wichtig die exakte technische Durchführung der Impfung ist.

Bezüglich der Tröpfchengröße läßt auch die vorliegende Arbeit keinen Schluß darüber zu, ob eine bestimmte Größe für die Vakzination optimal ist. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß mit dem verwendeten Gerät bei der gewählten Einstellung gute Ergebnisse erzielt werden können. Inwieweit kleinere Tröpfchengrößen praktikabel und für die Tiere verträglich sind, ergibt sich aus den Untersuchungen nicht. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß nach den Angaben von PORSTENDÖRFER auch kleine Tröpfchen sich vergrößern und damit die Gefahr der Erzeugung einer Impfreaktion geringer sein dürfte, als allgemein angenommen wird.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß nach den vorliegenden Untersuchungen die Sprayvakzination zur Immunprophylaxe gegen die atypische Geflügelpest geeignet ist. Um die Spray-Impfung als Routine-Impfung in der Massen-

tierhaltung anwenden zu können, bedarf es der Entwicklung von Sprüngeräten, die in Ställen jeder Größenordnung und mit unterschiedlicher Ausstattung eingesetzt werden können.

Bei der Durchführung der Sprayvakzination für die vorliegenden Untersuchungen wurden gesundheitliche Schäden bei Menschen nicht festgestellt. Da aber von anderen Autoren (2,18) über einige Erkrankungsfälle an Konjunktivitis berichtet wird, die beim Impfpersonal im Anschluß an die Sprayvakzination auftraten, sollten bei der Durchführung dieser Impfungen eine Schutzbrille und eine Atemmaske getragen werden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Sprayvaktination von SPF-Küken verschiedenen Lebensalters ergab, daß Küken im Alter von 2, 16 und 30 Tagen ohne Unterschied gut immunisiert werden konnten. Aus welchem Grunde 42 Tage alte Küken eine nur unbefriedigende Immunität erreichten, konnte nicht geklärt werden.

Konventionelle Legehennen-Küken wurden über einen Zeitraum von 33 Wochen beobachtet und in dieser Zeit mit 3-maliger Sprayvaktination in einer gleichmäßigen Immunitätslage gehalten.

Bei einer anderen Aufzucht konventioneller Legehennen-Küken erwies sich der Stamm LaSota bei der Erstimpfung und der Revaktination als besser immunisierend.

Eine horizontale Ausbreitung der Impfinfektion ist nur in geringem Umfang möglich. Der Stamm LaSota immunisierte auf diese Weise eine größere Anzahl Tiere, als der Hitchner-B₁-Stamm.

Zu den vorliegenden Versuchen wurde ein Vernebelungsgerät verwendet, das einen Arbeitsbereich von 5 - 60 μ hat. Aus diesem Bereich wurden in Vorversuchen zwei Einstellungen gewählt, die im unteren und oberen Teil der Skala lagen. Die Wirkung der so erzeugten Impfnebel auf 14 Tage alte SPF-Küken war gleich. Insbesondere konnte mit Nebelteilchen dieser Größenordnung ein zu tiefes Eindringen in die Atemorgane vermieden werden.

7. Summary

With spray-vaccinations of chickens at various ages good and comparable responses could be achieved at 2, 16 and 30 days of age. The reasons for a poor immune response at 42 days of age remained unexplained.

Conventional laying stock was monitored over a period of 33 weeks. A balanced immune response could be maintained with 3 spray-vaccinations over this period.

In another replacement flock of conventional laying stock, La Sota strain gave better immunizing results after primary and revaccination. Horizontal spread of live vaccine virus is possible, but only to a minor extent. Due to these mechanisms a greater number of birds could be immunized with La Sota strain than with Hitchner B₁ strain.

A nebulizer with a range of 5 to 60 μ was used for the experiments reported here. In pilot trials 2 droplets sizes were selected from the upper and lower range of this scale. Vaccine fogs produced by this method gave a balanced antibody response in 14 days old SPF-chickens. Excessive penetration of droplets of this order into the respiratory track could be avoided.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALLAN, W.H.: The problem of Newcastle Disease
Nature Vol. 234, 129 (1971)
2. ANDRÉ, V.: Zur Sprayimmunisierung der Hühner gegen
Newcastle Disease. Dtsch. tierärztl. Wschr. 73,
279 (1966)
3. BEARD, C.W., B.C. EASTERDAY: The influence of the
route of administration of Newcastle Disease virus
on host response. 1. Serological and virus isolation
studies J. Infect. Dis. 117, 55 (1967)
4. BEARD, C.W., B.C. EASTERDAY: The influence of the route
of administration of Newcastle Disease virus on host
response. 2. Studies on artificial passive immunity.
J. Infect. Dis. 117, 62 (1967)
5. BEARD, C.W., B.C. EASTERDAY: The influence of the
route of administration of Newcastle Disease virus
on host response. 3. Immunofluorescent and histopatho-
logical studies. J. Infect. Dis. 117, 66 (1967)
6. BEKE, L., B. TOTH: Versuche zur Immunisierung von
Eintagsküken gegen Geflügelpest mit B₁-Virus-
Aerosolen. Magyar Allatorvosok Lapja 15, 8 (1960)
ref.: Landw. Zbl. IV 5, 1716 (1960)
7. BENDHEIM, U.: Zur Anwendung von Hitchner B₁-Trinkwasser-
Vakzine bei Legehennen. Der praktische Tierarzt 46,
201 (1965)
8. BENGELSDORFF, H.J., J.B. KAYSER: Vergleichende Unter-
suchungen über Unschädlichkeit und Immunisierungs-
vermögen verschiedener Newcastle-Disease-Virusstämme
bei Küken. Die blauen Hefte f. d. Tierarzt 44, 140
(1970)
9. BORZEMSKA, W.: Donosowe uodpornianie pisklat przeciw
chorobie Newcastle za pomoca szczepów NDV LaSota i.F.
Medycyna weterynaryjna 18, 205 (1962)

10. BOX, P.G.: The influence of maternal antibody on vaccination against Newcastle Disease. Vet. Rec. 77, 246 (1965)
11. BRAN, L. u.a.: Zur Immunisierung von Küken mit dem avirulenten Pseudogeflügelpestvirusstamm B₁. Veterin. casopos 8, 209 (1959) ref.: Landw. Zbl. IV 5, 759 (1960)
12. BURZEW, B.J., J.M. BANDARENKO, B.B. TSCHERNITSCHEW, A.T. KUSCHNIR: Immunologische Wirksamkeit von Aerosol-Vakzination des Geflügels gegen atypische Geflügelpest. Veterinaria 47, 1 (1970)
13. CRAWLEY, J.F., J.E. FAHEY: The spray method for Bronchitis and Newcastle Disease Vaccination. The South-western Veterinarian 7, 164 (1954)
14. DORN, P.: Die Newcastle-Krankheit und ihre Immunprophylaxe. Tierärztl. Praxis 1, 43 (1973)
15. GRATZL, E., H. KÖHLER: Spezielle Pathologie und Therapie der Geflügelkrankheiten. Ferdinand Enke - Verlag, Stuttgart 1968
16. HITCHNER, S.B., E.P. JOHNSON: A virus of low virulence for immunizing fowls against Newcastle Disease. Vet. Med. 43, 525 (1948)
17. HITCHNER, S.B. and G. REISING: Factors influencing the immune response of birds exposed to sprayed Newcastle Vaccine. Proc. 25th Ann. Meet. N.E.Conf. Lab. Wkrs. Pullorum Dis. Control. Amherst, Mass. 1953
18. HITCHNER, S.B. and G. REISING: Results of field tests on Spraying a commercially prepared Newcastle Disease Vaccine. Proc. of the 90th Ann. Meet. of the American Veterinary Medical Association 90, 350 (1953) Toronto
19. HUTYRA - MAREK - MANNINGER - MOSCY: Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. Bd. I Infektionskrankheiten Gustav Fischer Verlag Jena, 11. Auflage, 1959

20. JANSSEN, W. und H. LÜDERS: Vergleichende Untersuchungen über die Entwicklung hämagglutinationshemmender Antikörper nach Vakzinierung gegen die Newcastle Disease mit den Stämmen LaSota und Hitchner B₁ sowie deren Verträglichkeit im Feldversuch. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 78, 579 (1971)
21. JOHNSON, E.P. and W.B. GROSS: Vaccination against Pneumoencephalitis (Newcastle Disease) by atomization or nebulization with the B₁-Virus. Veterinary Medicine 46, 55 (1951)
22. JOHNSON, E.P. and W.B. GROSS: Vaccination against Pneumoencephalitis (Newcastle Disease) by atomization or nebulization in Incubators and Chick Boxes with the B₁-Virus. Veterinary Medicine 47, 364 (1952)
23. KALETA, E.F. und O. SIEGMANN: Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis hämagglutinationshemmender und virusneutralisierender Antikörper nach Vakzinationen gegen die Newcastle Disease. Archiv f. Geflügelkunde 35, 79 (1971)
24. KALETA, E.F., O. SIEGMANN, H. LÜDERS, W. JANSSEN: Kinetik der ND-spezifischen Antikörper in Hühnern. I. Methode, Reproduzierbarkeit und Spezifität des HAH-Testes. Kongreßbericht der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft: Antigen und Immunantwort beim Huhn. Berlin 6. und 7. April 1972
25. KENTRUP, J.: Feldversuche zur Immunisierung gegen die Newcastle-Krankheit in Verbindung mit Immunitätskontrolle. Dissertation med. vet., FU Berlin 1972
26. KOCH, H.: Anerkannte Pflanzenschutzgeräte und -geräteeile. (Auszüge aus den Prüfungsberichten 1958) II Nachrichtenblatt d. Deutschen Pflanzenschutzdienstes 11, 145 (1959)

27. KOLB, E.: Lehrbuch der Physiologie der Haustiere.
Fischer Verlag Jena 1962
28. KRAFT, V., J. BAUMER, G. MONREAL, H.-M. OPITZ: Lokale
Antikörperbildung in der Trachea Newcastlevirus-
infizierter Küken. Tagungsbericht Berlin, April 1972
29. LANCASTER, J.E.: Newcastle Disease. A Review 1926-1964
Roger Duhamel, F.R.S.C., Queen's Printer and Con-
troller of Stationery. Ottawa, Canada 1966
30. LANDGRAF, H. und E. VIELITZ: Untersuchungen über den
Impferfolg verschiedener Impfprogramme und Impf-
virusarten bei der Geflügelpest. Dtsch. tierärztl.
Wschr. 77, 393 (1970)
31. LANDGRAF, H. und E. VIELITZ: Versuche zur Immunisierung
von Hühnerküken gegen atypische Geflügelpest (New-
castle-Krankheit). Dtsch. tierärztl. Wschr. 79, 493
(1972)
32. Lexikon der Physik. Franckh'sche Verlagshandlung,
W. Keller & Co. Stuttgart 1969 D.T.V. Taschenbuch-
ausgabe Bd. 1 S. 60, Bd. 6 S. 224
33. LÜTHGEN, W.: Bildung hämagglutinationshemmender Anti-
körper gegen Newcastle Disease (atypische Geflügel-
pest) nach Vakzination mit Hitchner B₁-Trinkwasser-
Vakzine bei Käfighaltung, sowie der Einfluß auf die
Legeleistung bei unvollständig oder nicht geimpften
Legehennen. Dtsch. tierärztl. Wschr. 78, 533 (1971)
34. LÜTHGEN, W.: Untersuchungen zum Nachweis von Antikör-
pern im Trachealexsudat des Huhnes nach experimen-
teller Infektion mit Newcastle-Virus. Tagungsbe-
richt Berlin, April 1972
35. MAREK, K., H. RASZEWSKA, W. BORZEWSKA: Badania nad
wartością uodporniającą szczepionki F przeciwko
pomorowi ptaków (NDV) wprowadzonej do układu oddech-
owego. Medycyna weterynaryjna 17, 577 (1961)

36. MARKHAM, F.S., A.H. HAMMAR, P, GINGHER, H.R. COX:
Vaccination against Newcastle Disease and Infectious
Bronchitis. 1. Preliminary studies in mass vaccina-
tion with live virus dust vaccines.
Poultry Sci. 34, 442 (1955)
37. MONREAL, G., H.-M. OPITZ und V. KRAFT: Untersuchungen
über die Minimaldosis von Newcastle-Trinkwasser-
Impfstoffen. Tierärztl. Umschau 26, 575 (1971)
38. MONREAL, G.V. KRAFT und J. BAUMER: Die minimale
immunogene Dosis von lentogenem Newcastle-Virus
bei verschiedenen Infektionswegen. Berl. Münch.
Tierärztl. Wschr. 85, 453 (1972)
39. PORSTENDÖRFER, J.: Untersuchungen zur Frage des Wachs-
tums von inhalierten Aerosolteilchen im Atemtrakt.
Aerosol Sci. 2, 73 (1971)
40. PRICE, R.J., C.A. BOTTORFF, K. SEEGER, A.W. SYLSTRA,
F.S. MARKHAM: Vaccination against Newcastle Disease
and Infectious Bronchitis. 2. Field trials in mass
vaccination with live virus dust vaccines.
Poultry Sci. 34, 449 (1955)
41. REED, L.J. und H. MUENCH: A simple method of estimating
fifty percent endpoints. Am. J. Hyg. 27, 493 (1938)
42. REISING, G. and S.B. HITCHNER: A viability study of a
frozen Newcastle-Vaccine for spray application
Poultry Sci. 33, 494 (1954)
43. SCHNEIDER, B.: Untersuchungen zur peroralen Vakzina-
tion gegen die atypische Geflügelpest.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 73, 41 (1960)
44. SCHNEIDER, B. und H.-J. BENGELSDORFF: Newcastle-Disease
Immunisierungsprogramme und Empfänglichkeit der
Küken immuner Hennen. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.
76, 371 (1963)

45. SIEGMANN, O. und WOERNLE: Zum Antigenspektrum der atypischen Geflügelpest (Newcastle-Disease). Arch. Exp. Veterinärmedizin 9, 202 (1955)
46. SINHA, S.K., R.P. HANSON und C.A. BRANDLY: Aerosol transmission of Newcastle Disease in Chickens. Amer. J. vet. Res. 15, 287 (1954)
47. SUGIMURA, T., T. KATAOKA and Z. NAGAISHI: Influence of congenital passive immunity on the response of chicks to Newcastle Disease Vaccination. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart. 10, 99 (1970)
48. SUHACI, J.R. URSACHE, E. POPA and V. CHIRITA: Studies on oral vaccination against Newcastle Disease Archiva Veterinaria Bucuresti 1,2, 43 (1968)
49. TAKATSY, G.J.: The use of spiral loops in serological and virological micro-methods. Acta Microbiol. Hung. 3, 191 (1956)
50. TOTH, B.: Immunisierung gegen die Geflügelpest mit Virusnebel (Aerosol). Magyar Allartovosok Lapja 14, 272 (1959) ref. Landw. Zbl. IV 5, 1329 (1960)
51. TRAUB, E. Anwendung von Küken-Embryo-Vaccine gegen die atypische Geflügelpest in Deutschland. Zbl. Bakt.I (Orig.) 150, 1 (1943)
52. TRAUB, E.: Eine Adsorbat-Vakzine gegen atypische Geflügelpest. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. p.39 (1943)
53. Verordnung zum Schutz gegen die Geflügelpest und die Newcastle-Krankheit (Geflügelpestverordnung) 19. Dez. 72 Bundesgesetzblatt Teil I, S. 2509, Jahrg. 1972
54. WINTERFIELD, R.W. and E.H. SEADALE: Newcastle Disease Immunization Studies. 2. The immune response of chickens vaccinated with B₁ Newcastle Disease virus administered through the drinking water. Poultry Sci. 36, 54 (1957)

55. WINTERFIELD, R.W. and E.H. SEADALE: Newcastle Disease immunization studies. 3. The immune response of chickens vaccinated at an early age with B₁ Newcastle disease virus administered through the drinking water under field conditions. Poultry Sci. 36, 65 (1957)
56. WINTERFIELD, R.W., C.I. GOLDMAN and E.H. SEADALE: Newcastle Disease immunization studies. 4. Vaccination of chickens with B₁, F and LaSota strains of Newcastle disease virus administered through the drinking water. Poultry Sci. 36, 1076 (1957)
57. WYNOHRADNYK, VI., M. PAPADOPOL, P. DINCULESCU, J. SUHACI und E. SASU: Laboratory researches on the immunizing value of some attenuated strains of Newcastle Disease virus. Archiva Veterinaria Bucuresti 2, 41 (1966)
58. ZEHETBAUER, G., Ch. KUNZ und A. THALER: Über Erkrankungsfälle von Pseudogeflügelpest (Newcastle-Krankheit) beim Menschen in Niederösterreich. Wiener klin. Wschr. 83, 878 (1971)

Herrn Prof. Dr. G. Monreal danke ich herzlich für sein ständiges Interesse und seine Ratschläge zur Durchführung der Untersuchungen.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. Vielitz und Frau Dr. Landgraf vom Lohmann-Veterinär-Labor in Cuxhaven für die großzügige Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und Herrn Dr. Pohl für die histologischen Untersuchungen.

Dem Geschäftsführer der Geflügelzucht Gudendorf, Herrn Höpken, danke ich für die Bereitstellung der Ställe und des Tiermaterials zur Durchführung der Feldversuche.

Lebenslauf

Am 10.10.1938 wurde ich als Sohn des Dipl.-Ing. Friedrich Schulze und seiner Ehefrau Gerda Schulze, geb. Richter, in Berlin-Charlottenburg geboren.

Von 1944 - 1952 besuchte ich die Grundschule in Beeskow, Holzdorf/Elster und Wildau b. Berlin, von 1952 - 1957 die Oberschule in Königs-Wusterhausen. Dort bestand ich im Mai 1957 die Reifeprüfung. Von Oktober 1957 bis Juni 1958 besuchte ich in Berlin-Tempelhof einen Ergänzungs-Lehrgang zur Erlangung der Anerkennung des Reifezeugnisses.

Im Wintersemester 1958/59 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität in Berlin. Dort bestand ich 1960 die Tierärztliche Vorprüfung und 1963 das Tierärztliche Staatsexamen. Die Praktikantenzeit absolvierte ich an der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere und der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten der Freien Universität Berlin. Die Tierärztliche Approbation wurde mir am 19. Mai 1964 erteilt.

Vom 1. Juli 1964 bis zum 30. September 1965 war ich wissenschaftlicher Hilfsassistent im Physiologischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität in Berlin.

Seit dem 1. Oktober 1965 bin ich als Geflügel-Tierarzt in Neumünster tätig.

Lebenslauf

Am 10.10.1925 wurde ich als Sohn des Hptl.-Ing. Josef
Karl Schmitz und seiner Ehefrau Gertrud Schmitz, geb. Kuhn,
in Berlin-Gesundbrunn geboren.

Vom 1925 - 1932 besuchte ich die Grundschule in Gesundbrunn,
Hauptlehrer Herr Hildebrandt und Hilfen v. Berlin, von 1932 - 1937
die Oberschule in Köpenick-Neudamm, dort bestand ich
im Mai 1937 die Reifeprüfung. Im Oktober 1937 bin ich
1938 besuchte ich in Berlin-Friedrichshagen eine Lehrgangs-
Leistung zur Erlangung der Anerkennung des Fortschritts.

Im Wintersemester 1938/39 begann ich das Studium der Rechts-
wissenschaft an der Freien Universität in Berlin. Dort
bestand ich 1940 die Staatsexamen. Die Fortschritts-
bescheinigung wurde mir 1940 erteilt. Die Fortschritts-
bescheinigung ist an der Rechts- und Politikwissenschaft ab-
gegeben und der Klasse für Staatswissenschaft und Rechtswissenschaften der Freien Universität Berlin. Die Fort-
schrittsbescheinigung wurde mir am 18. Mai 1940 erteilt.

Am 1. Juli 1940 bin ich zum Hptl. bestanden. Ich war als ein-
zelständiger Mitarbeiter im Ingenieurwesen tätig.
Vor der Fortschrittsbescheinigung habe ich das Fortschritts-
zeugnis in Berlin.

Seit dem 1. Oktober 1942 bin ich als Gehilfen-Tischler
in Potsdam tätig.

